

THÈSE

Présentée

DEVANT L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON

pour obtenir

le grade de DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Christian BANGE

EFFETS DE L'ANHYDRIDE CARBONIQUE SUR LA COMPOSANTE AMINO-ACIDE DU SANG CHEZ LE RAT

Soutenue le 21 Octobre 1972 devant la Commission d'Examen

M. G. PERES, Professeur

Président

M^{lle} D. GAUTHERON, Professeur

M. R. FLANDROIS, Professeur

M. M. FLORKIN, Professeur

} Examinateurs



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552611_0029

THÈSE

Présentée

DEVANT L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON

pour obtenir

le grade de DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Christian BANGE

EFFETS DE L'ANHYDRIDE CARBONIQUE SUR LA COMPOSANTE AMINO-ACIDE DU SANG CHEZ LE RAT

Soutenue le 21 Octobre 1972 devant la Commission d'Examen

M. G. PERES, Professeur

Président

M^{lle} D. GAUTHERON, Professeur

M. R. FLANDROIS, Professeur

M. M. FLORKIN, Professeur

} **Examineurs**



Président : M. le Professeur J. BOIDIN

1er Vice-Président : M. R. TOURAINE, Maître de Conférences agrégé

2ème Vice-Président : M. P. PONCET, Maître Assistant

3ème Vice-Président : M. D. SETTELEN, Etudiant

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

UNITES

DIRECTEURS

U.E.R. médicale Grange-Blanche

U.E.R. médicale Alexis Carrel

U.E.R. médicale LYON-Nord

U.E.R. médicale LYON-Sud-Ouest

U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques

U.E.R. des Techniques de Réadaptation

U.E.R. de Biologie Humaine

U.E.R. d'Education Physique et Sportive

U.E.R. des Sciences Odontologiques

U.E.R. de Mathématiques

U.E.R. de Physique

U.E.R. de Chimie et Biochimie

U.E.R. des Sciences de la Nature

U.E.R. de Biodynamique et Psychopédagogie

U.E.R. de Physique Nucléaire

U.E.R. de Mécanique

Observatoire

Institut Universitaire de Technologie 1

Institut Universitaire de Technologie 2

M. le Professeur D. GERMAIN

M. le Professeur C. GIROD

M. le Professeur A. BERTOYE

M. le Professeur L. TOLOT

M. M. CARRAZ, Maître de Conférences agrégé

M. le Professeur P. MOUNIER-KÜHN

M. J.C. CZYBA, Maître de Conférences agrégé

M. A. MILLON, Professeur E.P.S.

M. R. VINCENT

M. le Doyen J. BRACONNIER

M. le Professeur M. DUFAY

M. le Professeur D. GAUTHERON

M. le Professeur L. DAVID

M. R. FONTANGES, Maître de Conférences

M. le Professeur A. SARAZIN

M. le Professeur J. MATHIEU

M. le Professeur J.H. BIGAY

M. le Professeur B. POUYET

M. J. CALLET

Secrétaire Général : M. P. IZAUTE

Le présent travail doit son origine à l'oeuvre entreprise par le professeur Daniel CORDIER, afin de démêler les effets métaboliques engendrés par des changements dans la composition de l'atmosphère. C'était pour moi un devoir que de saluer la mémoire de mon regretté maître.

Je voudrais remercier maintenant toutes les personnes qui ont bien voulu s'intéresser à mes recherches, et en ont facilité la réalisation.

C'est auprès de M. le Professeur G. PERES que j'ai commencé ma carrière de physiologiste. Il a bien voulu, dès le début, m'associer à ses travaux, et le sujet de cette thèse rejoint ses propres recherches sur le métabolisme protidique. Après m'avoir prodigué de judicieux conseils, il me fait l'honneur de présider le jury chargé d'examiner mon travail, et je le prie de trouver ici ce modeste témoignage de ma profonde gratitude.

M. FLORKIN, Professeur à l'Université de Liège, grâce à des investigations menées chez les espèces animales les plus diverses, a pu introduire ou généraliser dans le domaine de la physiologie métabolique plusieurs concepts particulièrement féconds. Je m'en suis inspiré au cours de ce travail, dont il veut bien aujourd'hui être juge, et je tiens à lui dire que ma reconnaissance n'a d'égale que mon admiration.

Mademoiselle GAUTHERON, Directeur de l'U.E.R. de Chimie et Biochimie, dont j'ai mis à profit les beaux travaux sur le rôle de certains systèmes enzymatiques dans le métabolisme cellulaire, a bien voulu critiquer mon travail de façon à le rendre moins imparfait. Il m'est agréable de reconnaître ici tout ce que je lui dois.

C'est dans le laboratoire parisien de M. le Professeur FLANDROIS que, délaissant pour un temps les aspects métaboliques de l'hypercapnie, je me suis initié à la physiologie respiratoire en étudiant la régulation chémoréflexe de la ventilation. Je lui dois ainsi une part essentielle de ma formation scientifique, et je le remercie bien vivement de juger mon travail.

Pendant plusieurs années, ma femme m'a aidé dans mes recherches, auxquelles elle a pris une part décisive. Je suis heureux de l'en remercier affectueusement.

Je n'aurais pu mener à bien mon travail sans la coopération prolongée de plusieurs chercheurs du laboratoire, parmi lesquels je me plais à citer M. ZWINGELSTEIN, qui m'a bien souvent fait profiter de sa grande expérience. D'autre part, Mademoiselle GUINAND, chargée de recherches du CNRS, a bien voulu m'initier aux techniques chromatographiques. Enfin, j'ai pu apprécier depuis plusieurs années l'aide de M. LUONG, pharmacien, au cours de son séjour au laboratoire. A tous, je redis mon amitié et j'adresse tous mes remerciements.

La mise au point du texte et de la bibliographie, ainsi que de l'illustration, m'a été grandement facilitée par l'aide précieuse que Mesdemoiselles MUEL et BRANDON m'ont amicalement accordée. Qu'elles veuillent bien trouver ici l'expression de ma vive gratitude.

LISTE DES ABREVIATIONS

COMPOSES AMINES

selon les règles de la Commission mixte de nomenclature biochimique, de l'Union Internationale de Biochimie et de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée :

AAB	:	acide aminobutyrique
Ala	:	alanine
Ans	:	ansérine
Arg	:	arginine
Asp	:	acide aspartique
Carn	:	carnosine
Citr.	:	citrulline
Cys	:	cystine
Gln	:	glutamine
Glu	:	acide glutamique
Gly	:	glycine
GSSG	:	glutathion oxydé
His	:	histidine
Ile	:	isoleucine
Leu	:	leucine
Lys	:	lysine
Met	:	méthionine
Orn	:	ornithine
Phe	:	phénylalanine
Pro	:	proline
Ser	:	sérine
Taur	:	taurine
Thr	:	thréonine
Trp	:	tryptophane
Tyr	:	tyrosine
Val	:	valine

ENZYMES

La nomenclature des enzymes est conforme aux recommandations édictées en 1964 par la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie (cf. 99).

P D G	:	phosphate - dépendant glutaminase	E. C. 3. 5. 1. 2.
P I G	:	phosphate - indépendant glutaminase	E. C. 3. 5. 1. 2.
P E P C K	:	phosphoénolpyruvate carboxy kinase	E. C. 4. 1. 1. 32
T A T	:	tyrosine : 2 -oxyglutarate aminotransférase ou tyrosine transaminase	E. C. 2. 6. 1. 5.

AUTRES SUBSTANCES

A C T H	:	hormone corticotrope
D O P A	:	3-4. dihydroxyphénylalanine
N A D (DPN)	:	nicotinamide adénine dinucléotide
N A D (TPN)	:	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
N A D red	:	nicotinamide adénine dinucléotide réduit

PHYSIOLOGIE RESPIRATOIRE

F_I	:	fraction (en pourcentage) d'un gaz dans l'air inspiré
P_A	:	pression partielle d'un gaz dans l'air alvéolaire
P_a	:	pression d'un gaz dans le sang artériel

STATISTIQUE

p	:	probabilité
r	:	coefficient de corrélation
s	:	écart quadratique
s_M	:	erreur standard de la moyenne
t	:	écart réduit
$\bar{x}$	:	moyenne arithmétique
λ	:	variance d'un composant indépendant .

INTRODUCTION

OBJET DU TRAVAIL

Il est classiquement admis, depuis Van SLYKE (229), que l'ammoniac urinaire provient de l'hydrolyse de la glutamine et de certains acides aminés. Ce phénomène joue un rôle majeur dans l'excrétion des ions H^+ ; l'ammoniac augmente dans les états d'acidose et de nombreux travaux ont été consacrés aux mécanismes ajustant l'ammoniogénèse rénale à l'excrétion des protons. On a surtout analysé les adaptations enzymatiques rénales survenant au cours de l'acidose expérimentale (PITTS, GOLDSTEIN). En revanche, les phénomènes affectant le métabolisme azoté extrarénal n'ont pas encore été étudiés d'une manière approfondie.

En particulier, les physiologistes qui ont étudié l'hyperammoniurie ont admis que le rein prélève dans le sang de l'ammoniac et d'autres composés α -aminés, notamment la glutamine ; cependant la concentration des amino-acides dans le sang n'a pas fait l'objet d'investigations chez les animaux au cours de l'hypercapnie.

Notre travail a consisté à étudier ces variations, et déceler une partie de leurs mécanismes. Nous décrirons successivement la hausse de l'azote α -aminé total sous l'influence du CO_2 , l'absence de variations notables de l'urée, les variations des molécules α -aminées, tantôt positives (glutamine et alanine notamment) tantôt négatives (glutamate et tyrosine). Enfin, au moyen de déterminations comparatives des constituants aminés dans certains tissus, et d'expériences d'inhibition de la surrénale par la métyrapone, nous aborderons l'analyse des mécanismes mis en causes au cours des phénomènes étudiés.

PREMIERE PARTIE

POSITION DU PROBLEME

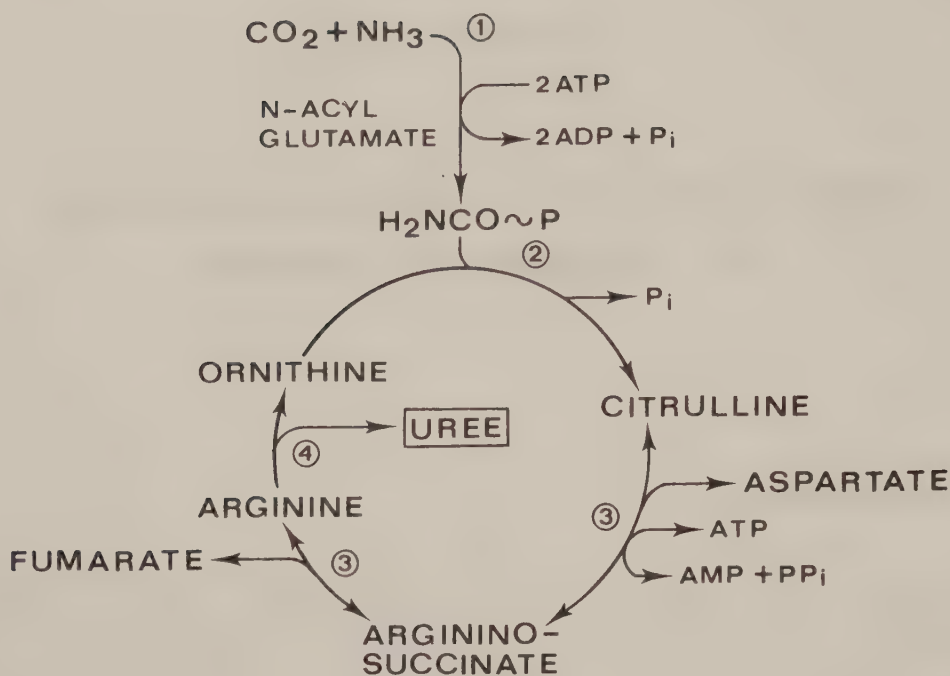
CHAPITRE I

EFFETS DU CO_2 SUR LES ACIDES AMINES DU SANG ET L'EXCRETION DE L'AMMONIAC

A - INTRODUCTION

On connaît le rôle du CO_2 dans la régulation des fonctions respiratoires et circulatoires chez les Mammifères, ainsi que de l'équilibre acide-base. A ce titre, on a bien étudié le transport dans le sang des ions H^+ apparus sous l'effet de l'anhydrase carbonique, ainsi que leur excretion urinaire sous forme de bicarbonates, de phosphates et surtout d'ions NH_4^+ . Au contraire, l'intervention du CO_2 dans le métabolisme intermédiaire est moins connue. Dès 1879, DASTRE (58) a étudié le problème de l'hyperglycémie provoquée par l'asphyxie : il n'a pas procédé à l'étude expérimentale du CO_2 et il a tiré de ses seules expériences d'hypoxie par dépression barométrique, la conclusion que "l'acide carbonique n'a pas de rôle à jouer dans ce phénomène". Bien des physiologistes ont accepté et généralisé ces conclusions de DASTRE, quoiqu'un certain nombre d'auteurs aient depuis lors démontré l'action du CO_2 dans le métabolisme des glucides (13, 34, 45, 48, 49, 61, 65) et dans celui des lipides (149, 226). Dans le cas du métabolisme azoté, l'hypercapnie n'a pas reçu la considération qu'elle mérite.

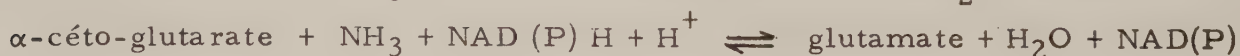
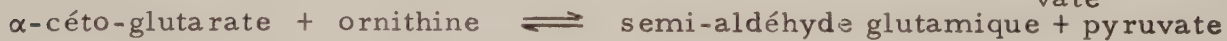
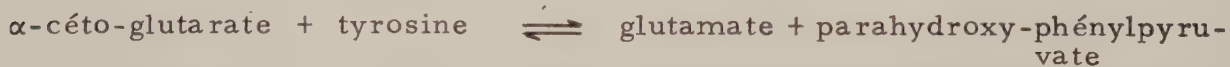
Pourtant, l'interaction du CO_2 avec le métabolisme des acides aminés se produit au cours de nombreuses réactions. C'est ainsi que la biosynthèse de l'urée comporte, comme premier stade du cycle de KREBS et HENSELEIT (119), la fixation d'ammoniac et d'anhydride carbonique sur une molécule d'ornithine.



- ① CARBAMYL PHOSPHATE SYNTHETASE
 ② ORNITHINE TRANSCARBAMYLASE
 ③ ARGININE SYNTHETASE
 ④ ARGINASE

Figure 1 - Biosynthèse de l'urée d'après le schéma de KREBS et HENSELEIT modifié

D'autre part, deux des acides cétoniques du cycle tricarboxylique de KREBS participent à de nombreuses réactions le plus souvent réversibles de transaminations ou de désaminations :



On a démontré à plusieurs reprises dans divers tissus (155) et surtout dans le tissu nerveux des vertébrés (18, 231, 232) et des invertébrés (37, 38, 82) la possibilité d'une incorporation du CO_2 dans les acides aminés, grâce aux réactions réversibles du cycle tricarboxylique et H. WAELSCH (230) a précisé la signification de ce phénomène dans le maintien des propriétés de la membrane nerveuse. Il existe également, dans le tissu nerveux, une réaction de décarboxylation au cours de laquelle le glutamate se transforme en acide γ amino-butyrique.

Toutes ces réactions paraissent susceptibles d'être affectées par l'augmentation de la pression partielle du CO_2 dans l'organisme. Or, nos connaissances sur les conséquences de l'hypercapnie dans le métabolisme des amino-acides sont inégalement développées. On a surtout étudié les réactions métaboliques affectant les amino-acides dans le rein, et nous allons en premier lieu exposer les principaux résultats obtenus à ce sujet.

B - EFFETS DU CO_2 SUR L'HYDROLYSE RENALE DE LA GLUTAMINE ET L'EXCRETION DE NH_4^+

Le CO_2 modifie l'excrétion azotée. Si les effets qu'il exerce sur l'excrétion de l'urée sont relativement inconstants (224) en revanche l'augmentation de l'excrétion urinaire de NH_4^+ au cours de l'hypercapnie est un fait bien établi. CARTER, SELDIN et TENG (32) ont observé ce phénomène chez le rat lors de l'hypercapnie chronique et GOLDSTEIN et SCHOOLER (88) l'ont obtenu chez des rats ayant respiré pendant 4 heures de l'air contenant 10% de CO_2 ; l'excrétion d'ammoniac passe de $6 \pm 1 \mu$ moles/100 g de poids corporel/heure chez les rats normaux à $17 \pm 1 \mu$ moles chez les rats hypercapniques. On trouve ainsi chez le rat hypercapnique l'augmentation de l'excrétion urinaire de NH_4^+ qui se manifeste dans tous les états d'acidose expérimentale ou pathologique y compris l'acidose respiratoire (159, 183, 195, 224).

NASH et BENEDICT (152) paraissent être les premiers à avoir remarqué, en 1921, chez les Mammifères, que l'excrétion rénale d'ammoniac excède de beaucoup la filtration. L'ammoniémie est plus élevée dans le sang efférent que dans le sang afférent. On a tenté de faire dériver l'ammoniac ainsi produit dans le rein de précurseurs tels que l'urée ou encore des groupements amides des protéines plasmatiques. Puis des preuves expérimentales ont été apportées en faveur de composés α -aminés (cf. 179) et, en 1943, VAN SLYKE et ses collaborateurs (229) ont montré que le groupement amide de la glutamine hydrolysée grâce à la glutaminase (116) est à l'origine de 60 pour 100 de l'ammoniac excrété par le rein. L'azote α -aminé de la glutamine et de divers autres acides aminés couvre presque tout le reste. Ces amino-acides sont principalement connus grâce à des expériences de LOTSPEICH et PITTS (130), au cours desquelles les auteurs ont réalisé une surcharge sanguine en administrant un acide aminé:

l'alanine et l'histidine augmentent notablement l'ammoniac excrété, la glycine, la leucine, la méthionine, l'acide aspartique l'augmentent modérément; enfin, la lysine, l'arginine et l'acide glutamique sont dépourvus d'effet ammoniogène.

On a expliqué l'augmentation de l'ammoniogénèse dans les états d'acidose, soit par l'augmentation du prélèvement rénal en glutamine, à la suite d'une accélération du débit sanguin rénal, soit par l'adaptation des systèmes enzymatiques intervenant dans l'hydrolyse de la glutamine.

La première hypothèse ne paraît pas devoir être retenue dans les expériences d'hypercapnie, car le CO_2 provoque dans le rein une réduction du débit sanguin accompagné d'oligurie. Ce résultat a été obtenu lors d'expériences d'apnée (114), d'asphyxie sévère (76) ou d'inhalation de CO_2 à des concentrations élevées (9,217). Ce phénomène paraît provenir d'une vasoconstriction d'origine nerveuse, puisqu'on le supprime en sectionnant les nerfs rénaux (112, 114). Les expériences d'hypercapnie modérée ne donnent lieu qu'à des changements modestes; NORMAN et al (154) ont montré chez le chien que le seuil d'apparition de la vasoconstriction pouvait être fixé à Pa_{CO_2} d'environ 60 mmHg; au delà, il se produit une chute du débit plasmatique rénal et de la filtration glomérulaire proportionnelle à Pa_{CO_2} ; la diminution est de 50 p. 100 quand $\text{Pa}_{\text{CO}_2} = 120$ mmHg.

Quant à l'augmentation de l'activité glutaminasique rénale, elle a été démontrée chez le rat hypercapnique par GOORNO (91); l'élimination de NH_4^+ , calculée à partir de mesures effectuées sur des coupes de reins prélevés chez des animaux ayant respiré pendant 8 à 12 heures de l'air contenant 8 p. 100 de CO_2 atteint 1,6 fois le taux des témoins. Ce résultat est à rapprocher de nombreuses observations relatant chez le rat une augmentation plus ou moins forte de la glutaminase rénale lors d'expériences d'acidose dite métabolique, réalisées en administrant du chlorure d'ammonium aux animaux (59, 88, 91).

Cependant lors de leur expérience d'hypercapnie chronique, CARTER, SELDIN et TENG (32) n'ont pas observé d'augmentation de l'activité glutaminasique, et GOLDSTEIN et SCHOOLER (88) ont montré que l'augmentation de l'ammoniogénèse en acidose métabolique expérimentale est à peu près indépendante de l'augmentation de l'activité glutaminasique, et persiste après administration d'actinomycine D qui inhibe la biosynthèse de l'enzyme. Il convient d'observer à propos de ces mesures que la détermination des activités enzymatiques, réalisée le plus souvent au pH optimum en présence de quantités élevées de substrat et en l'absence des activateurs et inhibiteurs cellulaires normaux, n'est donc pas effectuée dans les conditions existant dans l'organisme, si bien qu'elle ne correspond pas toujours à la quantité d'enzyme réellement présente dans le tissu étudié. D'autre part, il n'est possible d'estimer l'activité enzymatique réelle in vivo qu'à la condition de déterminer chacun des paramètres susceptibles de la modifier (concentration des substrats et produits de réaction, des

substances activatrices ou inhibitrices, potentiel d'oxydo-réduction, localisation de l'enzyme etc....). En prenant ces éléments en considération, GOLDSTEIN et SCHOOLER (88) ont estimé que dans les conditions physiologiques normales, l'activité réelle de la glutaminase in vivo, représentant sans doute moins de 1 pour 100 de l'activité totale mesurée in vitro, correspond à deux fois la quantité de NH_4^+ excrétée normalement par le rat.

A la suite de ces résultats GOLDSTEIN (85-86) a imaginé que dans le rein du rat la libération de NH_3 à partir de la glutamine se trouverait contrôlée au cours de l'hypercapnie non seulement par la synthèse de la glutaminase, mais aussi par un facteur à court terme qui permettrait, à lui seul, une importante marge d'adaptation. GOLDSTEIN et SCHOOLER (88) ont considéré à la suite de GOODMAN, FUISZ et CAHILL (90) que le facteur à court terme pouvait être représenté par la levée d'une inhibition exercée sur la glutaminase par un composé normalement présent dans le rein. Une telle hypothèse découle des études effectuées in vitro sur les inhibiteurs de la glutaminase et d'observations in vivo chez diverses espèces.

L'étude in vitro de la glutaminase a permis de reconnaître que cette enzyme existe sous la forme de deux isoenzymes ; l'une est activée par les phosphates inorganiques, c'est la "Phosphate-dependent glutaminase", (PDG) ; l'autre n'est pas activée, c'est la "Phosphate-independent glutaminase", (PIG). Les caractéristiques des deux isoenzymes diffèrent, en outre, selon le tissu considéré (106) : le pH optimum de la PIG rénale est voisin de 7.00, et celui de la PDG est compris entre 8.5 et 9.00 ; c'est l'inverse qui a lieu dans le foie ou le cerveau. De même, les activateurs ou les inhibiteurs connus exerceraient des effets plus ou moins marqués sur les deux isoenzymes, selon le tissu envisagé. Pour la PDG rénale, on admet une inhibition par l'acide glutamique (SAYRE et ROBERTS, -197-, chez le chien; GOLDSTEIN -85, 87-, chez le rat). En ce qui concerne l'acide α -cétoglutarique (ainsi que d'autres acides organiques), des résultats contradictoires ont été obtenus par GOLDSTEIN (85) et par DAMIAN et PITTS (57) qui lui attribuent un effet inhibiteur, et par O'DONOVAN et LOTSPEICH (156-157) qui, au contraire, le considèrent comme un activateur.

In vivo il a été montré par GOLDSTEIN et SCHOOLER (88) que le niveau rénal du glutamate est diminué chez le rat par l'hypercapnie : il passe de 30 à 24 μ moles/g de tissu sec ($p < 0,05$) lorsque les animaux ont respiré pendant 4 heures de l'air contenant 10 p. 100 de CO_2 . Or d'après KREBS (118), le glutamate est un excellent substrat de la néoglycogénèse dans le foie du rat et l'on a pensé qu'il pouvait en être de même dans le rein. Effectivement, GOODMAN, FUISZ et CAHILL (90) ont observé lors d'expériences in vitro que le tissu rénal produit une grande quantité de glucose quand il est incubé en présence de glutamine ou de glutamate. Si le rat est rendu acidotique par administration de NH_4Cl , la production de glucose en présence de glutamine est augmentée de 75 pour 100. KAMM, FUISZ, GOODMAN et CAHILL (104) ont retrouvé le même résultat

avec des rats en hypercapnie chronique (48 h. de CO_2 à 10%). Ces résultats, rapprochés d'observations plus anciennes, ont incité GOODMAN (89, 90) d'une part, et GOLDSTEIN (85) d'autre part, à lier l'ammoniogénèse à la néoglycogénèse : la conversion du glutamate et de l' α -cétoglutarate en glucose serait le premier phénomène atteint par l'abaissement du pH. L'hyperammoniogénèse serait une conséquence passive de la diminution du niveau rénal du glutamate.

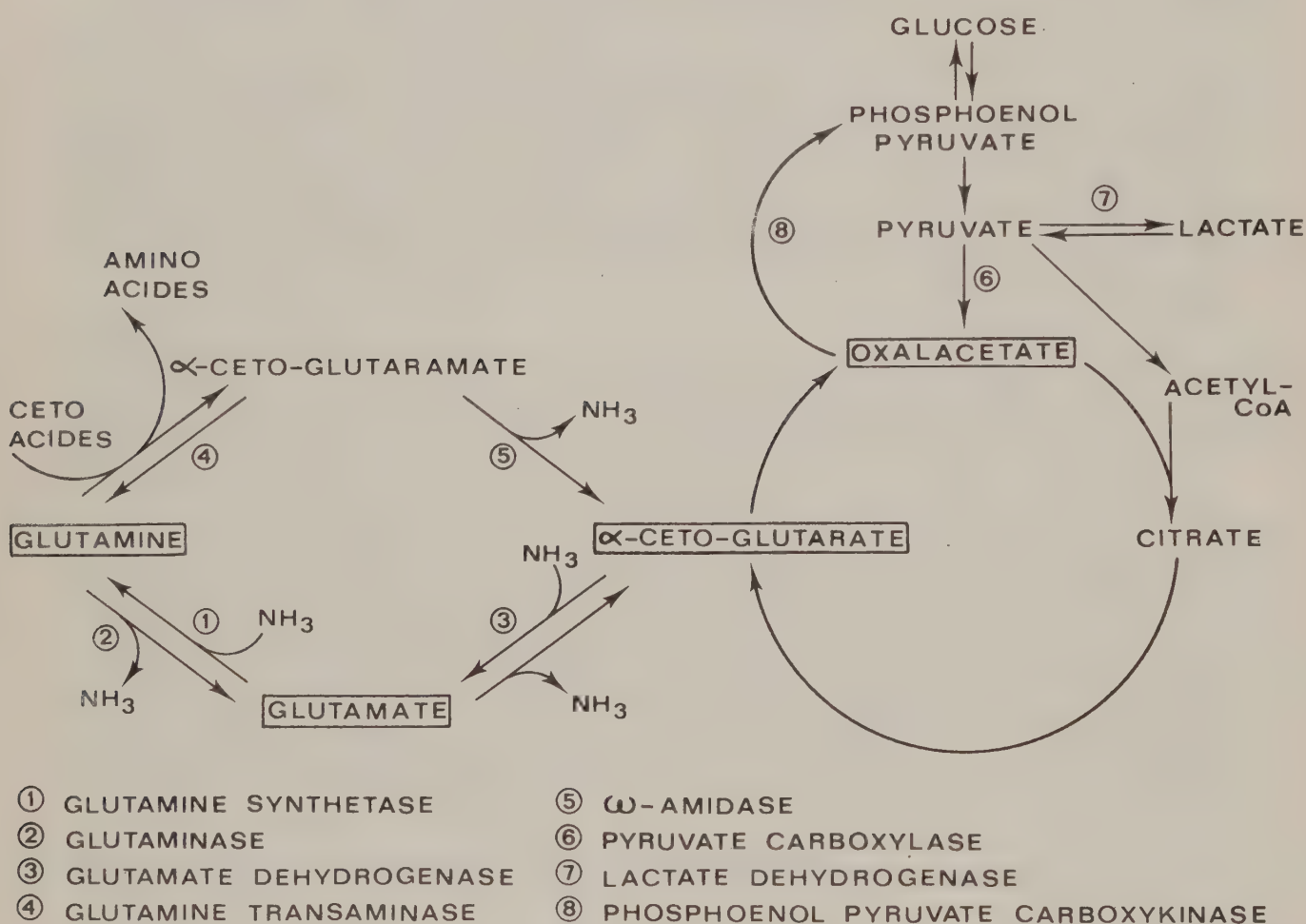


Figure 2 - Ammoniogénèse et néoglycogénèse dans le rein d'après GOODMAN et GOLDSTEIN

Toutefois, si des travaux effectués sur des rats en acidose métabolique expérimentale ont confirmé l'importance de la néoglycogénèse rénale (80, 81, 103) le mécanisme réel de couplage paraît se situer au niveau de la phosphoénolpyruvate carboxykinase (4, 5, 6) et du rapport NAD^+/NADH (181, 182) sans que l'on puisse déterminer l'importance respective et les liens de ces deux facteurs. GOODMAN (89) a procédé récemment à un examen des résultats expérimentaux ; il conclut que l'augmentation de la phosphoénolpyruvate carboxykinase dans le rein, au cours de l'acidose, accélère l'hydrolyse de la glutamine en favorisant l'élimination des produits de la réaction ; le glutamate et l' α -cétoglutarate peuvent, soit

servir à la resynthèse du glucose, ce qui a été démontré in vitro (42, 43, 103) mais n'aurait in vivo qu'une faible importance (113), soit être oxydés en CO_2 , ce qui a été observé in vivo (169). Quant à l'augmentation du rapport NAD/NAD red., elle favorise également la diminution du niveau du glutamate.

En outre, un rôle important paraît revenir à la répartition des substrats et des enzymes dans le rein, d'une part entre le cytoplasme et les mitochondries, d'autre part entre le cortex et la medulla (100, 125, 153).

L'origine de la glutamine supplémentaire ainsi hydrolysée au cours de l'acidose a suscité un certain nombre de recherches. Certains physiologistes ont émis l'hypothèse que la glutamine pouvait être synthétisée dans le rein; on trouve dans cet organe chez certaines espèces, comme le rat, le lapin, le cobaye (100, 192, 240) la glutamine synthétase (E. C. 6. 3. 1. 2), qui permet l'amidation du glutamate en présence d'ATP et d'ions Mg^{++} , mais les reins des animaux à urine acide tels le chien et le chat sont dépourvus de glutamine-synthétase; chez le rat, l'activité de la glutamine-synthétase mesurée in vivo est égale à celle de la glutaminase, dans les conditions normales d'équilibre acide-base et elle est diminuée lors d'expériences d'acidose chronique expérimentale (57). Ceci peut constituer chez le rat, comme le remarque PITTS (173) un système réversible contrôlant en partie la production d'ammoniac en fonction de l'équilibre acide-base.

A côté de la synthèse endogène de glutamine, il convient de faire une place à l'augmentation des apports exogènes. A plusieurs reprises LOTSPEICH (cf. 1) a considéré que l'augmentation de l'excrétion urinaire de NH_4^+ en acidose impliquait un accroissement de la fourniture de glutamine (ou de certains acides aminés) au rein. Cependant, l'on n'a pas apporté jusqu'à présent de preuves expérimentales en faveur de cette conception, et PITTS (134, 173) a affirmé, qu'il ne se produit pas d'augmentation de la glutamine dans le plasma des animaux au cours de l'acidose métabolique. Il pouvait en être autrement lors de l'hypercapnie, si l'on en juge par quelques observations relatives à l'amino-acidémie, que nous allons maintenant rapporter.

C - EFFETS DU CO_2 SUR LA "COMPOSANTE AMINO-ACIDE" DU SANG.

L'action du CO_2 sur l'amino-acidémie n'a fait jusqu'à présent l'objet que d'un nombre très restreint de travaux. PERES (165, 166) a observé une augmentation atteignant 26 % pour l'azote α -aminé dans le plasma de rats ayant respiré pendant 6 heures de l'air contenant 20 p. 100 de CO_2 . Cette observation a été récemment confirmée par MAGGI (135) dans des conditions il est vrai bien particulières, puisque le dosage de l'azote α -aminé a été effectué au cours d'expériences d'absorption intestinale du glucose chez le rat. Quant à ROBINSON (190) il a noté lors d'expériences

d'hypercapnie chronique menées sur le rat, des variations de l'azote non protéique du plasma tantôt positives, tantôt négatives, selon le taux de CO_2 (5.7 et 11 p.100) et la durée (2, 4 ou 9 semaines).

Il est permis de se demander quels sont les composés aminés dont l'augmentation lors de l'hypercapnie peut entraîner une hausse aussi notable de l'amino-acidémie totale. FLORKIN (73) a proposé de désigner les pools d'amino-acides propres à chaque tissu sous le nom de "composante amino-acide" ; il a montré qu'il n'existe pas de parallélisme entre la composition relativement uniforme des protéines, considérées globalement, et la grande diversité des types de composition intracellulaire de la composante amino-acide. Dans le sang du rat, la glutamine, l'alanine, la glycine et la lysine constituent environ la moitié de la composante amino-acide ⁽¹⁾. Dès 1932 LEUTHARDT (126) a considéré la glutamine sanguine comme assurant le transport des groupements NH_2 d'un tissu à l'autre. Plus récemment, MARLISS et al (137) ont observé que les quatre molécules précitées (glutamine, alanine, glycine et lysine) sont relâchées massivement par les tissus périphériques. FELIG et al (67) suggèrent que l'alanine, dont la transamination réversible peut s'effectuer grâce à l'alanine amino-transférase présente dans tous les tissus, joue comme la glutamine un rôle important dans le transport des groupements NH_2 .

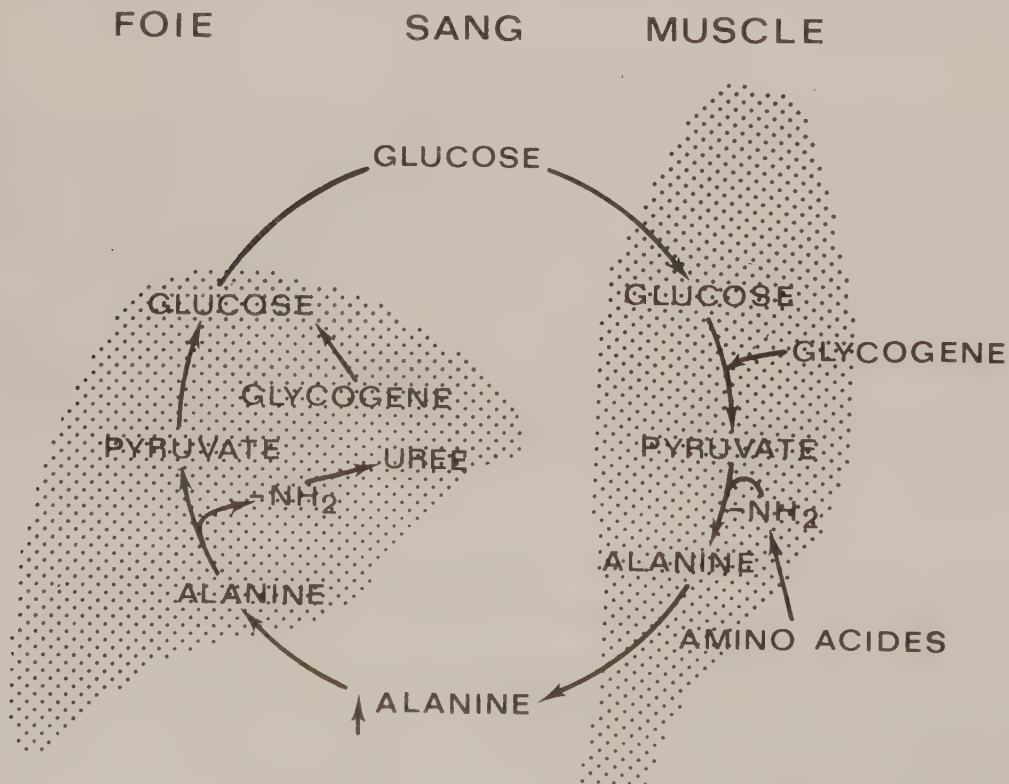


Figure 3 - Le cycle de l'alanine d'après les travaux de FELIG

(1) Les données de la littérature relatives à la teneur du sang, du plasma des hématies du rat en acides aminés ont été regroupées dans l'annexe I, pp.125 à 132.

Le niveau moyen des acides aminés dans le plasma d'une même espèce est stable, les modifications observées d'un individu à l'autre paraissent essentiellement en rapport, d'une part avec les conditions nutritionnelles (198, 39), d'autre part, avec l'état endocrinien. Plusieurs hormones interviennent dans la régulation de l'amino-acidémie. Certaines ont pour effet de provoquer chez les Mammifères une chute des acides aminés. Tel est le cas chez le rat de l'insuline (55), de l'adrénaline (93), de l'ACTH (132), de l'aldostérone (52, 167) et de l'hormone somatotrope (193); il y a lieu d'ajouter à cette liste le glucagon, qui abaisse l'amino-acidémie chez l'homme (123bis).

D'autres hormones semblent ne pas modifier le niveau des acides aminés, du moins chez les espèces animales étudiées; tel est le cas des hormones sexuelles mâles ou femelles (16, 40, 123).

En revanche, la thyroxine (22, 236, 237) ainsi que les hormones corticostéroïdes à action glycotrope élèvent notablement l'amino-acidémie chez le rat (50, 51, 62, 194). Cet effet est rapide avec l'hydrocortisone et la cortisone: CORDIER et PERES (50, 51) ont montré qu'une injection unique de 2,5 mg de l'une ou l'autre de ces hormones entraîne au bout de 6 heures une élévation de 15 pour 100 de l'azote α -aminé plasmatique. Il est possible que la hausse des acides aminés du sang par le CO_2 s'effectue grâce au concours des hormones corticosurrénaliennes. On sait en effet que le CO_2 agit sur la surrénale en favorisant la libération de corticostéroïdes (142, 185, 186) ainsi que de catécholamines (146, 150, 151). Il semble que l'on ne puisse guère retenir ce dernier effet parmi les facteurs mis en oeuvre par le CO_2 , car l'action de l'adrénaline sur les acides aminés du sang s'exerce dans le sens de l'hypoacidémie. De plus, l'adrénalino-sécrétion n'a été observée que pour des taux élevés de CO_2 dans l'air inspiré et NAHAS (149) a montré que l'adrénaline et la noradrénaline ainsi libérées, si elles interviennent efficacement dans certaines fonctions physiologiques, comme la contraction cardiaque et la glycogénolyse, sont au contraire inactivées par l'acidose dans leurs effets calorigéniques et lipolytiques. En ce qui concerne les hormones cortico-surrénaliennes, RICHARDS et STEIN (186) ont fait les constatations suivantes: chez le chien, l'augmentation est proportionnelle à $F_{\text{I CO}_2}$ et à la durée d'exposition; lorsque $F_{\text{I CO}_2} = 0.10$, une heure d'inhalation du mélange hypercarbique entraîne une hausse des 11-hydroxystéroïdes dans le sang chez 75 pour 100 des animaux. L'augmentation n'existe pas chez les animaux hypophysectomisés (186) et elle est fortement réduite si on corrige l'acidose hypercapnique par l'administration de tris (hydroxyméthyl) amino-méthane (142).

D - CONCLUSION

Cette revue des données de la littérature montre que les effets du CO_2 sur la composante amino-acide de l'organisme sont très inégalement connus. On discerne dans ses grandes lignes le mécanisme de l'hyperammoniogénèse aux dépens de la glutamine ; en revanche, le transport sanguin de la glutamine et des amino-acides n'est pas connu. A cet égard, la hausse de l'azote α -aminé sanguin observée par certains auteurs constitue un fait méritant d'être analysé et c'est ce que nous avons réalisé dans le présent travail.

CHAPITRE II

PLAN D'EXPERIENCES

Nous nous sommes proposé d'établir les conditions dans lesquelles on peut observer une augmentation des composés α -aminés libres dans le sang du rat, sous l'influence du CO_2 . Nous avons procédé à une étude cinétique du phénomène et au moyen d'expériences comparatives d'hypoxie et d'hypoxie hypercapnique, nous avons vérifié s'il s'agit d'un effet primaire de l'hypercapnie ou d'un effet indirect, dû à l'hypoxie par effet BOHR. Nous avons également analysé quelques facteurs pouvant intervenir dans le phénomène étudié, tels que le pH sanguin, l'hypothermie, le niveau d'activité des animaux, ainsi que les conditions alimentaires susceptibles de modifier la valeur initiale de la composante amino-acide.

Nous avons conduit ces expériences en dosant les composés α -aminés libres totaux, et nous avons déterminé quelles étaient les conditions les plus favorables pour observer l'hyperamino-acidémie. Nous inspirant des principes dégagés pour ce type d'étude sur les acides aminés par BETHEIL et FEIGELSON (19) et par WELLERS (235), nous avons retenu une durée suffisante pour que les effets soient nettement observés, sans attendre cependant qu'un trouble trop profond du métabolisme azoté ne provoque entre autres une augmentation générale et massive des acides aminés sanguins, masquant ainsi les changements que le CO_2 peut induire spécifiquement.

Nous avons alors eu recours à diverses techniques pour apprécier le niveau réel des composés mis en cause. Nous avons dosé l'urée, en titrant le CO_2 dégagé par l'uréase selon la technique de microdiffusion de CONWAY ; la taurine et les acides aminés ont été caractérisés au moyen de diverses techniques chromatographiques, sur papier ou sur couche mince de cellulose. Puis, grâce à l'attribution d'un analyseur automatique d'acides-amino au Laboratoire de Physiologie Générale, nous avons pu procéder à un certain nombre de déterminations quantitatives de ces mêmes composés, en employant la technique de chromatographie par échange d'ions sur colonnes, à l'aide d'un analyseur Beckman Unichrom.

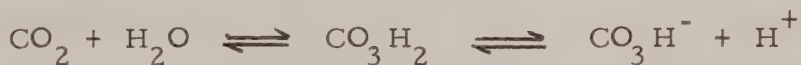
D'assez nombreux travaux ont récemment été effectués sur les acides aminés du plasma du rat avec cette technique, mais la plupart n'ont comporté qu'un nombre restreint d'analyses, réalisées parfois sur des pools de plasma provenant de plusieurs animaux. Quand on confronte les résultats publiés, on ne peut se faire une idée de la variabilité réelle du taux plasmatique des acides aminés du rat normal. De plus, il n'existe qu'un très petit nombre de publications relatives aux amino-acides du sang

total et des hématies ; or le rôle des hématies dans le transport des composés α -aminés libres totaux est connu depuis longtemps (198) et AOKI et al. (11) viennent de montrer que, sous l'effet de l'insuline chez l'homme, le prélèvement du glutamate sanguin par les muscles s'effectuait aux dépens du plasma et surtout des globules.

Nous avons, pour notre part, effectué nos déterminations non seulement sur le plasma, mais également sur le sang total et sur les hématies, et nous avons multiplié nos dosages chez le rat normal et chez le rat hypercapnique afin d'établir statistiquement les niveaux moyens de chacun des amino-acides, ainsi que leurs corrélations.

En outre, nous avons effectué des déterminations des composés α -aminés libres totaux et de certains acides aminés dans le muscle, le foie et le rein, afin de proposer des rapprochements avec les modifications observées dans le sang.

Les effets de l'hypercapnie peuvent être dûs au CO_2 lui même ou à l'abaissement du pH par suite de l'action de l'anhydrase carbonique :



Afin de différencier les effets du CO_2 et ceux du pH, nous avons étudié les variations que subissent les acides aminés dans le sang du rat hypercapnique lorsque l'on maintient le pH sanguin à sa valeur normale grâce à l'administration, par voie intrapéritonéale, d'une solution de tartrate de sodium ; le choix de cette molécule a été dicté par les considérations suivantes : les tartrates sont des composés naturels, abondants dans certains aliments, et leurs effets alcalinisants sont bien connus grâce au travail de PRATT et SWARTOUT (180) . Ils sont dépourvus de toxicité, et de ce fait souvent employés pour la préparation de solutions injectables d'agents pharmacologiques. Précisément, lors d'expériences effectuées avec la métyrapone, que nous allons maintenant décrire, nous avons injecté cette substance sous la forme d'une solution de bitartrate ; aussi, nos essais conduits avec une solution de tartrate de sodium ajustée au même pH que celui de la solution de métyrapone employée et injectée par la même voie en quantité égale, peuvent servir de témoins pour discuter les effets de la métyrapone.

Le CO_2 provoque une augmentation de l'adrénalino-sécrétion et de la libération de corticostéroïdes. On peut penser qu'à la concentration d'anhydride carbonique mise en oeuvre dans nos expériences, il existe une intervention simultanée de l'adrénaline et des corticostéroïdes. Afin de différencier leur rôle, nous avons eu recours au blocage de la biosynthèse des corticostéroïdes, au moyen de la métyrapone (métopirone CIBA)(1).

(1) Métopirone CIBA (marque déposée); nous remercions bien vivement les Etablissements CIBA qui ont mis gracieusement à notre disposition la métopirone employée au cours de ces expériences.

Cette substance intervient très rapidement sur le cortex surrénalien en inhibant la réaction de 11-hydroxylation qui conduit à la corticostérone et à l'aldostérone (36). De nombreuses expériences ont permis à CHART et SHEPPARD (35) d'en préciser les effets : la chute des hydroxycorticostéroïdes dans le plasma se produit chez le chien ou chez le rat, une dizaine de minutes après une injection intraveineuse du produit; elle est plus ou moins forte selon la dose envisagée, et peut atteindre 70 à 100 pour cent, chez le chien, à la dose de 43 mg/kg de poids corporel. Cette inhibition se prolonge pendant plusieurs heures, et il en résulte une stimulation de l'hypophyse, et une libération accrue d'ACTH. Les voies d'administration sont variées, soit intraveineuse, soit intrapéritonéale, soit orale . La métyrapone disparaît rapidement du plasma du rat, car elle est métabolisée par le foie en formant un composé réduit, le 2-méthyl-1-2-di (3 pyridyl)-propanol (115) ; aussi, sa demi-vie est courte : 12 minutes environ chez le rat (220) ; SZEREBENYI (221) a du reste montré quelle varie de 8 à 20 minutes, suivant un rythme circadien. Nous avons de ce fait adopté le protocole expérimental dû à CHART et SHEPPARD ; nous avons administré la métyrapone par voie intrapéritonéale, 1 heure avant les prélèvements. Les résultats des expériences d'hypercapnie effectuées chez de tels animaux sont rapportés dans le dernier chapitre de nos recherches personnelles.

DEUXIEME PARTIE

METHODES ET TECHNIQUES D'ETUDE

CHAPITRE I

REALISATION DES EXPERIENCES

A - ANIMAUX D'EXPERIENCES

Les animaux employés sont des rats mâles albinos (Rattus norvegicus). Les rats utilisés dans les recherches relatives aux composés α -aminés libres totaux du sang (chap. I à III) sont de souche SHERMAN provenant du Centre d'Elevage de l'Université de Poitiers ; leur poids varie de 220 à 360 g. Les rats utilisés dans les recherches relatives aux acides aminés (chapitres IV à VI) sont de souche WISTAR provenant de l'élevage JANVIER à Le Genest (Mayenne) ; leur poids varie de 300 à 480g.

Ces rats sont acclimatés pendant plusieurs semaines avant les expériences dans une animalerie bien éclairée dont la température est contrôlée par un thermostat.

L'alimentation consiste en un régime standard équilibré de galettes (Aliment composé complet SARB pour Rats) ⁽¹⁾, la boisson étant assurée ad libitum par des biberons d'eau.

Toutes les expériences d'une même série expérimentale ont été réalisées à la même heure, afin d'éviter, autant que faire se peut, les conséquences des rythmes circadiens dont on sait qu'ils affectent, chez le rat, la prise de nourriture ainsi que certains constituants sanguins et tissulaires (31, 68, 171, 242), certaines hormones comme la corticostérone (94) et des systèmes enzymatiques, dont plusieurs concernent le métabolisme azoté (tyrosine transaminase, tryptophane oxydase, 33, 70, 77, 124, 241).

En conséquence, les rats sont mis à jeûn entre 16 h. et 18 h. (GMT) ; ils disposent d'eau ad libitum, et les expériences sont réalisées de façon à ce que les animaux soient sacrifiés, après 18 h. de jeûne, entre 10 et 12 h., exception faite des expériences dont la durée était de 6 heures, lors desquelles les animaux ont été sacrifiés entre 14 h et 15 h.

Des expériences ont été effectuées avec des animaux non jeûneurs : ces animaux sont placés à la diète 4 h. avant l'utilisation. Ce délai de 4 heures pour les animaux alimentés est un minimum pour avoir des valeurs de l'aminoacidémie et de la protéinémie qui ne soient pas le simple reflet de l'absorption intestinale. Pour l'autre série d'animaux, un jeûne d'une durée supérieure à 24 heures risquerait de modifier anormalement l'équilibre azoté (164).

(1) La composition de cet aliment est donnée dans l'annexe 4, p. 141.

En règle générale, chaque expérience comporte, à côté d'un ou plusieurs rats traités (et éventuellement des témoins), au moins un animal n'ayant subi aucun traitement.

B - REALISATION DES EXPERIENCES D'HYPERCAPNIE.

Les animaux non anesthésiés sont placés par paire ou isolément dans une cellule de plexiglass de 4 dm^3 reliée à ses deux extrémités à un spiromètre de Tissot de 100 litres, préalablement rempli d'un mélange d'oxygène, d'azote et de gaz carbonique en proportions déterminées. Ce mélange est renouvelé périodiquement toutes les 45 mn. afin de conserver la teneur voulue ⁽¹⁾. Il circule dans le dispositif grâce à une pompe électrique dont le débit est de 25 l/mn.

Les expériences ont été effectuées à la température moyenne du laboratoire, comprise entre 20 et 23°C.

Les expériences suivantes ont été réalisées :

a) hypercapnie normoxique constante

Les animaux séjournent dans le dispositif pendant 30 minutes, 1 heure, 2 heures, 4 heures ou 6 heures. Ils y respirent une atmosphère dont la composition reste constante :

	$F_{I_{O_2}}$	$F_{I_{N_2}}$	$F_{I_{CO_2}}$
hypercapnie modérée	0,21	0,69	0,10
hypercapnie brutale	0,21	0,59	0,20

b) hypercapnie hyperoxique constante

Dans le cas où la teneur en CO_2 est élevée, l'on peut craindre que l'oxygénation des tissus soit diminuée par suite de l'effet BOHR. Aussi a-t-on réalisé des expériences où $F_{I_{O_2}}$ est légèrement augmenté :

$$F_{I_{O_2}} = 0,35 ; \quad F_{I_{N_2}} = 0,45 ; \quad F_{I_{CO_2}} = 0,20$$

(1) En 1 heure et pour 4 rats placés dans la cellule, $F_{I_{O_2}}$ passe de 0,21 à 0,20, diminution qui est dépourvue d'effets physiologiques.

C - REALISATION DES EXPERIENCES DE CONTROLE.

Des expériences de contrôle ont été réalisées au moyen du dispositif précédent. Ce sont les suivantes :

a) Normoxie normocapnique

Dans cette expérience, les animaux, pendant des durées comprises entre 1 h et 6 h., respirent un mélange gazeux dont la teneur en oxygène est celle de l'air ambiant : le spiromètre de TISSOT est rempli du mélange artificiel suivant :

$$F_{I_{O_2}} = 0,21 \quad , \quad F_{I_{N_2}} = 0,79 \quad F_{I_{CO_2}} = 0$$

A la sortie de la cellule d'expérience, l'air propulsé par la pompe passe dans un manchon rempli de chaux sodée, qui fixe l'anhydride carbonique rejeté par les animaux.

b) Hypoxie normocapnique

Les animaux respirent pendant des durées comprises entre 30 minutes et 6 heures un mélange gazeux appauvri en oxygène :

$$F_{I_{O_2}} = 0,07 \quad F_{I_{N_2}} = 0,93 \quad F_{I_{CO_2}} = 0$$

L'anhydride carbonique rejeté par les animaux est fixé sur de la chaux sodée de la même manière que dans l'expérience précédente.

c) Hypoxie hypercapnique

Les animaux respirent pendant des durées comprises entre 30 minutes et 6 heures un mélange gazeux enrichi en anhydride carbonique et appauvri en oxygène :

$$F_{I_{O_2}} = 0,07 \quad F_{I_{N_2}} = 0,83 \quad F_{I_{CO_2}} = 0,10$$

D - ADMINISTRATION DE TARTRATE ET DE METYRAPONE.

a) Administration de tartrate de sodium

Dans ces expériences, deux rats mis à jeûn 18 heures auparavant reçoivent par injection intrapéritonéale, 0,5 ml d'une solution de tartrate de sodium à 10 pour 100, ajustée à pH 3,3. L'un des rats sert de témoin, et il est sacrifié une heure après l'injection. L'autre est placé

aussitôt après l'injection dans le dispositif expérimental, où il respire pendant une heure de l'air enrichi en CO_2 ($F_{\text{I O}_2} = 0,21$; $F_{\text{I CO}_2} = 0,10$) puis il est sacrifié.

b) Administration de métyrapone

Dans ces expériences, deux rats mis à jeûn 18 heures auparavant reçoivent, par injection intrapéritonéale, 0,5 ml d'une solution de métopirone Ciba (bitartrate) à 100 mg par ml. L'un des rats sert de témoin, et il est sacrifié une heure après l'injection. L'autre est placé aussitôt après l'injection dans le dispositif expérimental, où il respire pendant une heure de l'air enrichi en CO_2 ($F_{\text{I O}_2} = 0,21$; $F_{\text{I CO}_2} = 0,10$) puis il est sacrifié.

Le mode d'administration de la métyrapone ainsi que la posologie découlent des travaux de CHART et SHEPPARD (35) et de BRUDIEUX et DELOST (29, 56) .

E - VERIFICATION DE QUELQUES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES .

Afin de déterminer l'influence éventuelle de certains facteurs physiologiques susceptibles de se trouver modifiés par l'hypercapnie, nous avons vérifié au cours d'expériences de contrôle, l'évolution de la température corporelle, de l'activité des animaux et du pH sanguin.

a) Température corporelle

Nous avons mesuré la température rectale des animaux au moyen d'une sonde à thermocouple de 2,2 mm de diamètre, reliée au thermomètre électrique universel ELLAB gradué en dixièmes de degrés.

b) Activité des rats

Les animaux sont placés dans une petite cage cylindrique en plexiglass reliée au spiromètre de TISSOT par deux tubulures latérales opposées. Le courant gazeux traverse la cage grâce à une pompe placée sur le circuit (débit : 10 l/mn.) . La cage est munie de trois pieds, dont chacun est placé sur une capsule manométrique de MAREY; les trois capsules sont reliées au moyen d'un capteur à un actographe enregistreur RACIA.

c) pH du sang

Le pH du sang est mesuré à l'abri de l'air, au moyen d'un pH mètre au 1/500 (BECKMAN) ; la mesure est effectuée à la température du laboratoire, et ramenée ensuite à 37°C .

F - PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS .

En fin d'expérience, les animaux sont sacrifiés par décapitation et le sang est recueilli dans un tube de centrifugeuse préalablement hépariné (11 gouttes de liquémine Roche ou d'Anticlot Delagrangé). Dans certaines expériences, on procède de plus au prélèvement des organes suivants : rein, foie, muscle gastrocnémien .

a) Traitement du sang

Une partie aliquote du sang est prélevée et déféquée de manière appropriée à chacun des dosages décrits ci-après. En outre, on prélève un peu de sang dans un tube capillaire calibré, afin de déterminer l'hématocrite : le tube est scellé à une de ses extrémités à la flamme de la veilleuse d'un bec Bunsen, puis centrifugé pendant 10 minutes sur un micro-centrifugeur Hawksley à 5 000 tours/mn. Cette détermination est faite en double.

Le reste du sang est centrifugé immédiatement pendant 5 minutes à 3 500 tours/mn. et le plasma est aussitôt séparé du culot d'hématies par aspiration au moyen d'une pipette Pasteur. Il est traité de la même manière que le sang.

b) Traitement des organes

Les organes (foie, rein, muscle gastrocnémien) sont rapidement prélevés et pesés, puis on place un fragment d'environ 1 gramme de tissu musculaire ou hépatique, ou un rein entier, dans un tube contenant soit de l'eau distillée glacée pour le dosage de l'azote α -aminé libre total et des protéines, soit de l'acide trichloracétique à 10 p. 100 pour l'analyse chromatographique des acides aminés. On complète à 10 grammes avec l'eau ou l'acide trichloracétique et l'on procède au broyage au moyen d'un appareil Ultraturrax, en moins de 30 secondes .

CHAPITRE II

TECHNIQUES ANALYTIQUES

DETERMINATION DES COMPOSES AZOTES

A - DOSAGE DES COMPOSES α -AMINES LIBRES TOTAUX PAR LA NINHYDRINE (METHODE DE MOORE ET STEIN) .

Nous avons utilisé le dosage à la ninhydrine, selon la méthode de MOORE et STEIN (145) qui donne une évaluation globale quantitative des substances à groupement NH_2 libre .

Défécation : Le dosage porte sur un filtrat trichloracétique de sang, de plasma ou d'organe: on pipette dans un tube de centrifugeuse 0,1 ml de sang, de plasma ou de broyat de foie, de rein ou de muscle. On y ajoute de l'eau distillée, à raison de 0,9 ml pour le sang ou le plasma, et 4,4 ml pour les broyats de tissus, puis après avoir agité, on introduit goutte à goutte, en agitant, de l'acide trichloracétique à 10 pour 100, à raison de 1 ml pour le sang et le plasma, et de 0,5 ml pour les broyats de tissus. Le sang et le plasma sont donc dilués 20 fois, et les tissus 50 fois.

Cinq minutes après la défécation, les échantillons sont centrifugés pendant 15 minutes à 6 000 tours/minute. Les dosages d'azote aminé sont effectués sur le surnageant que l'on place rapidement à -20°C au congélateur jusqu'au dosage.

Dosage : On introduit 0,5 ml de filtrat trichloracétique dans un tube à essai. On ajoute 1 ml de réactif à la ninhydrine dans chaque tube (ninhydrine 40 mg, 10 ml de méthylcellosolve, 10 ml de solution tamponnée de chlorure stanneux à 1,6 g/l) et on porte les tubes au bain-marie à 100°C . pendant 20 minutes. Après refroidissement rapide on ajoute 5 ml d'une solution de dilution (n propanol et eau distillée à volumes égaux). Les tubes sont rebouchés aussitôt.

On traite simultanément une série de tubes contenant une solution standard d'azote aminé (glycocolle et acide glutamique) de 2 à 6 $\mu\text{g/ml}$, pour lesquels la courbe des densités optiques lues est linéaire.

La lecture de la densité optique s'effectue à 570 m μ , soit à l'électrophotomètre de MEUNIER, soit au spectrophotomètre UNICAM . Les cuves ou les tubes sont bouchés pendant la lecture, ce qui empêche l'évaporation du propanol et stabilise la lecture.

Calcul : La concentration de l'azote α -aminé libre du sang, du plasma et des tissus est déduite de la densité optique lue au photomètre, par comparaison avec la droite d'étalonnage. Compte tenu de l'importance de la dilution, il n'a pas été appliqué de correction relative au culot de centrifugation, telle qu'en proposent MEZINCESCO (139), THIVOLLE et LAUGIER (225). Les résultats sont exprimés en mg d'azote aminé par 100 ml de sang ou de plasma, ou par g. de tissu frais.

Le taux de l'azote aminé intraglobulaire est calculé à partir des valeurs de l'azote aminé du sang total et du plasma, à l'aide de l'hématocrite ⁽¹⁾.

Cette manière de procéder nous a paru licite, car des expériences de dilution de globules dans du plasma ont montré que la relation était linéaire jusqu'à un hématocrite de 60 p. 100 (BJORNESJO, 21). Les valeurs de l'hématocrite mesurées au cours de nos expériences sont toujours inférieures à cette limite. D'autre part, nous n'avons pas appliqué de coefficient de correction pour le plasma emprisonné entre les faces biconcaves des hématies ; les avis sont en effet partagés sur la validité des facteurs de correction proposés par certains auteurs.

B - DOSAGE DE L'UREE

L'urée est dosée par la méthode de microdiffusion de CONWAY (44).

Principe : L'urée est hydrolysée à l'aide d'uréase dans la chambre extérieure d'une cellule de CONWAY. L'ammoniaque ainsi formée est décomposée par une solution saturée de carbonate de potassium et le gaz ammoniac résultant diffuse de la chambre extérieure à la chambre intérieure de la cellule de CONWAY. Là, il est absorbé par de l'acide borique saturé contenant un indicateur de pH qui vire au vert. L'ammoniac ainsi absorbé est titré directement avec de l'HCl N/50 jusqu'à virage au rose pâle.

Réactifs :

- Réactif borique : acide borique à 1 p. 100 dans l'alcool méthylique à 20 p. 100, contenant 1 p. 100 de la solution d'indicateur (0,033 g de vert de bromocrésol + 0,066 g de rouge de méthyl dans 100 ml d'alcool). Le réactif borique doit avoir une couleur rose pâle, que l'on obtient en ajoutant quelques gouttes de soude N/100.
- Solution saturée de K_2CO_3 : 112 g de K_2CO_3 dissous dans 100 g d'eau bouillie exempte d'ammoniac.

(1) Soit H la concentration dans les hématies, S celle du sang, P celle du plasma et h l'hématocrite, on a $H = \frac{S - (1-h)P}{h}$

- La suspension d'uréase (uréase Merck) est préparée extemporanément: 200 mg dans 5 ml d'eau + 1 ml de tampon phosphate (5 g de phosphate disodique anhydre + 2 g de phosphate monopotassique anhydre p. 100). On testera l'activité de l'uréase sur une solution d'urée à 20 mg p. 100 .

Manipulation : Ce dosage comprend en tout 3 opérations :

1) Dans la chambre intérieure de la cellule de Conway, on introduit 1 ml de réactif borique, et dans la chambre extérieure 0,2 ml de sang ou de plasma (en même temps, on opère de la même façon sur une solution standard d'urée et sur de l'eau distillée), puis 0,5 ml de la suspension d'uréase. On ferme la cellule avec son couvercle vaseliné. Le contenu de la chambre extérieure est mélangé par agitation légère sur une table oscillante de Dale. On laisse agir 45 minutes à la température ordinaire.

2) On déplace légèrement le couvercle, de façon à ajouter 1 ml de la solution de carbonate de potassium dans la chambre extérieure. On replace le couvercle et on laisse l'ammoniac diffuser pendant 1 h 1/2 à 2 h à la température ordinaire.

3) A l'aide d'une microburette on titre le contenu de la chambre intérieure avec de l'acide chlorhydrique N/50 jusqu'à virage au rose pâle.

Le nombre de centièmes de ml d'acide chlorhydrique utilisés pour la titration, diminué de la valeur obtenue sur l'eau distillée et multiplié par 0,03 donne la teneur d'urée dans le sang ou le plasma en grammes par litre. L'urée intraglobulaire est estimée par le calcul à partir des valeurs ainsi obtenues et de l'hématocrite.

C - DOSAGE DU GLUTATHION

Principe : La méthode de KAPLAN et DREYFUS (105) est fondée sur la réaction de l'acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) avec le glutathion réduit pour donner de l'acide 5-thiol (2 nitrobenzoïque). La réaction étant stoechiométrique, l'intensité de la coloration jaune obtenue est directement proportionnelle à la quantité de glutathion présent.

Réactifs :

- tampon phosphate de sodium 0,5 M à pH 6,8
- acide 5,5'-dithiobis (2 nitrobenzoïque) : solution M/1 000 dans le tampon phosphate (se conserve plusieurs semaines).

Mode opératoire : On hémolyse 1 ml de sang avec 3 ml d'eau distillée. Puis on défèque avec 1 ml d'acide métaphosphorique à 25 pour 100 . A 0,5 ml de filtrat, on ajoute 2 ml de tampon phosphate puis 0,5 ml de réactif 5,5'-dithiobis (2 nitrobenzoïque). La coloration se développe instantanément et reste stable pendant au moins 10 minutes. La courbe d'éta-

l'onnage est établie à partir d'une solution M/1 000 de glutathion réduit préparée extemporanément. On lit au spectrophotomètre à 412 m μ .

D - DOSAGE DES PROTEINES

a) Protéines plasmatiques

Le dosage a été effectué selon la micro-méthode de FLEURY (71).

Principe : On utilise la réaction du "biuret", selon la méthode de GORNALL (92).

Réactif de GORNALL :

Sulfate de cuivre (Cu SO_4 , 5 H_2O)	1,5 g
Tartrate double de potassium et sodium	6 g
Soude exempte de carbonate	30 g
Eau q. s. p.	1 000 ml

(conservé en flacon paraffiné ou plastique à l'obscurité).

Mode opératoire : A 2 ml de plasma, dilué au 1/20 avec la solution de chlorure de sodium à 9 pour 1 000, on ajoute 8 ml de réactif de GORNALL. L'ensemble est abandonné 30 minutes à 20 - 25°. La coloration est stable pendant plusieurs heures. La courbe d'étalonnage est établie à partir de solutions d'albumine titrée (réactif Stalabo, Laboratoire Cooper, Melun). La lecture est effectuée au spectrophotomètre à 570 m μ .

b) Protéines tissulaires

Principe : La méthode de LOWRY et al. (131) que nous avons utilisée combine la réaction du "biuret" et la réaction de FOLIN.

Réactifs :

- réactif au sulfate de cuivre à préparer extemporanément :

1 ml de Cu SO_4 , 5 H_2O à 1 pour 100

1 ml de tartrate double de potassium et sodium à 2 pour 100

Na_2CO_3 à 2 pour 100, q. s. p. 100 ml.

- réactif de FOLIN(CIOCALTEUS - phenolreagent , Merck) que l'on titre avec de la soude en présence de phénolphtaléine - Avant le dosage, on le dilue pour l'amener à la normalité.

Mode opératoire : Le filtrat tissulaire à 1/10 dans de l'eau est amené à une dilution de 1/500 de façon à avoir une teneur en protéines inférieure à 800 μ g/ml. On prélève 0,5 ml , puis on ajoute 0,5 ml de NaOH N et

5 ml de réactif au sulfate de cuivre. Dix minutes après, on ajoute 0,5 ml de réactif de FOLIN dilué. On lit au spectrophotomètre à 500 m μ 30 minutes après l'addition du réactif de FOLIN. La courbe d'étalonnage est établie également à partir de solution d'albumine, en présence de soude N.

E - CHROMATOGRAPHIE DES ACIDES AMINES SUR COUCHE MINCE.

a) Chromatographie bidimensionnelle

Après quelques essais de chromatographie sur papier, nous avons utilisé les techniques de chromatographie sur couche mince plus faciles à mettre en oeuvre.

Principe : La chromatographie sur couche mince, comme la chromatographie sur papier, fait appel au coefficient de partage entre deux solvants des corps à séparer. Le sang, le plasma et les tissus contenant de nombreux acides aminés, nous avons utilisé la chromatographie en deux dimensions, en soumettant le mélange initial à deux chromatographies successives pratiquées perpendiculairement l'une à l'autre. Les acides aminés incolores sont ensuite révélés par vaporisation sur la plaque d'une solution de ninhydrine.

Nous nous sommes inspirés du manuel de STAHL (213) et des travaux de WOLLENWEBER (239), de MUNIER et al. (147) de BUJARD et al. (30) .

Préparation du sang et du plasma : Nous avons employé plusieurs agents de déprotéinisation : acétone (26,95), mélange acide acétique-oxalate après le traitement du sang à la N-éthylmaléimide (211), à l'alcool éthylique (27). Après déprotéinisation, le surnageant est lavé à l'eau puis acidifié, et enfin désionisé par passage sur colonne d'Amberlite IR 120 sous forme H^+ (colonne de 1 cm de diamètre et de 7 cm de haut) : on verse la solution d'acides aminés, puis après passage de 150 ml d'eau, on élue les acides aminés par 75 ml d'ammoniaque N. La solution ammoniacale est évaporée et le résidu sec est repris par de l'acide chlorhydrique N. On évapore à nouveau et le résidu sec est enfin repris par de l'eau pour être chromatographié.

Le dépôt (10 à 50 μ 1 selon la concentration) est effectué dans un angle de la plaque à 1,5 cm des bords.

Préparation des plaques : Des plaques de verre (200 x 200 mm) rigoureusement propres et sèches sont recouvertes de poudre de cellulose (MN 300 de Macherey et Nagel, 15 grammes de poudre homogénéisée dans 95 ml d'eau distillée par un agitateur magnétique pendant 1 heure). La suspension est alors étendue sur les plaques à l'aide d'un étaleur Desaga, la fente étant réglée à 0,25 mm.

Chromatographie : Nous utilisons la technique de chromatographie ascendante dans des cuves rectangulaires à atmosphère saturée. On place la plaque dans la cuve du 1er solvant de telle sorte que la migration du solvant se fasse dans le sens de la cellulose. Quand le front du solvant a parcouru 15 cm environ, on retire la plaque. On la sèche afin d'éliminer le solvant puis on la place dans la deuxième cuve de manière à effectuer une chromatographie ascendante perpendiculaire au sens de la première. Quand le front du solvant a parcouru 15 cm, on sort la plaque et on la sèche à l'étuve à 105°C.

De nombreux systèmes de solvants ont été appliqués à la chromatographie sur couche mince. Nous avons retenu le suivant :

1ère dimension : Butanol-Méthyléthylcétone-Ammoniaque 17 N-Eau (50:30:15:5) : migration 4 heures

2ème dimension : Butanol-Acide acétique- Eau (65:10:25) : migration 2 heures.

Révélation des acides aminés : Les acides aminés sont alors révélés par vaporisation d'une solution de ninhydrine à 0,2 p. 100 dans l'acétone à 4 p. 100 d'acide acétique et passage à l'étuve (15 minutes à 105°C.).

L'identification des spots se fait par comparaison avec la carte établie après chromatographie de solutions étalons d'acides aminés préparées à partir d'acides aminés "chromatographiquement homogènes" ou de solutions prêtes à l'emploi commercialisées (Shandon). L'identification des acides aminés peut se faire également par la technique des surcharges (témoins internes) ou des témoins latéraux. Nous avons utilisé aussi des réactifs spécifiques, de même que la réaction de MOFFAT et LYTTLE (143) qui permet d'obtenir des colorations spécifiques avec la plupart des acides aminés.

b) Electrophorèse - Chromatographie

L'avantage essentiel de cette technique par rapport à la précédente réside dans l'absence de désionisation préalable des échantillons et nous l'avons rapidement adoptée dès que nous avons eu le matériel d'électrophorèse à notre disposition.

Principe : L'opération comporte 2 étapes successives :

- une électrophorèse sur couche mince dans un milieu tampon de pH acide et volatil sépare les acides aminés en différentes fractions selon leur mobilité électrophorétique,

- dans un second temps, on réalise une chromatographie dans un sens perpendiculaire à la première dimension, qui scinde chacun de ces groupes en ses divers constituants.

Nous avons appliqué au sang et au plasma les techniques préconisées par YOUNG et al (243), TROUGHTON et al (227), COTTE et al (54).

Préparation du sang et du plasma : Quelque soit la technique de déprotéinisation retenue : acide perchlorique (54), acide picrique (216) ou acide sulfosalicylique (23), le surnageant est ensuite neutralisé avec de la potasse N/10 et amené à pH 8 - 8,5.

Le dépôt se fait également dans un angle de la plaque à 1,5 cm des bords (10 à 30 μ l selon les concentrations).

Préparation des plaques : Plaques de cellulose (200 x 200 mm) comme dans la technique précédente.

Mode opératoire : La migration électrophorétique se fait dans une cuve à électrophorèse. On enlève sur deux bords opposés de la plaque une bande de cellulose de 1 cm de large. On humidifie la plaque en pulvérisant la solution tampon servant à la migration (sans excès). On place la plaque dans la cuve, le dépôt du côté anodique. On effectue les jonctions entre le tampon et la plaque avec des languettes de papier filtre.

La migration est réalisée dans le sens de la cellulose, sous une tension de 350 volts et une intensité de 6 mA pendant 1 heure. Le tampon utilisé est à pH 1,95 (acide acétique : 78 ml, acide formique 25 ml, eau q. s. p. 1 000 ml).

On sèche ensuite la plaque afin d'éliminer le tampon volatil puis on dispose la plaque dans la cuve à chromatographie saturée du système tampon Butanol-Acide-acétique-Eau (65:10:25) pour une chromatographie ascendante perpendiculaire à la migration électrophorétique. Quand le front du solvant a parcouru 15 cm, on sort la plaque et on la sèche à l'étuve à 105°C.

Révélation : Même technique que pour la chromatographie à deux dimensions (p. 32).

F - CHROMATOGRAPHIE PAR ECHANGE D'IONS SUR COLONNES, SELON LA METHODE DE SPACKMAN, STEIN et MOORE (212)

Principe : La méthode de chromatographie sur résines échangeuses d'ions repose sur la fixation des composés α -aminés différente selon le pK, et selon la nature aliphatique ou aromatique du radical. Nous avons eu à notre disposition un analyseur Beckman Unichrom et différents types de résines sphériques polymérisées (polystyrène sulfoné + divinylbenzène).

Lors de nos premières analyses (sang et plasma) nous avons utilisé deux résines, l'une pour séparer les acides aminés acides et neutres, y compris la taurine et l'urée, et l'autre pour séparer les acides aminés basiques (tryptophane et ammoniac inclus). Dans le cas des tissus, nous avons disposé d'une résine nouvellement mise au point qui permet de séparer tous les acides aminés au cours d'une seule analyse.

Les composés séparés sont élués et colorés par la ninhydrine

à 100°C. La densité optique est déterminée par un photolorimètre, à la longueur d'onde de 570 m μ (exception faite de la proline et de l'hydroxyproline, qui sont "lues" à leur maximum d'absorption à 440 m μ). La concentration en amino-acides de l'échantillon est déterminée par référence à une analyse chromatographique d'une solution standard contenant des quantités connues des divers acides aminés (Acides aminés : standard calibration mixture, Beckman type I).

Défécation du plasma : Après des essais de défécation par l'acide picrique, selon la technique de STEIN et MOORE (216), nous avons utilisé la technique décrite par BLOCK et al. (23) utilisant l'acide sulfosalicylique. Dans un tube de centrifugeuse on ajoute 1,5 ml d'eau à 3 ml de plasma, puis on introduit goutte à goutte en agitant 1,5 ml d'acide sulfosalicylique à 20 p. 100. On centrifuge au bout de cinq minutes, on sépare le surnageant et on le stocke au congélateur à -20°C. jusqu'au dosage.

Défécation du sang : La méthode de Block et al. (23) a dû être modifiée pour être appliquée au sang, car on obtenait dans ce cas un surnageant trouble et coloré en rose ou en brun. Nous avons donc modifié les quantités relatives de l'eau et de l'acide sulfosalicylique, et nous avons mesuré au photomètre à 520 m μ la densité optique des surnageants obtenus :

Sang (vol.)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
H ₂ O (vol.)	1	1	1	1	2	2	0,5	0,5	0,5
Acide (vol.)	1	2	3	6	1	4	1	1,5	1,5
en unités arbitraires du photomètre	22	12	14,5	23	22	23	32	24,5	24,5

Compte tenu de ce que l'acide sulfosalicylique a une légère coloration, qui correspond à 6 unités, nous avons retenu pour le sang le protocole suivant; à 4 ml de sang on ajoute 2 ml d'eau distillée, puis goutte à goutte 4 ml d'acide sulfosalicylique à 20 p. 100. Après centrifugation, le surnageant est recueilli et conservé au congélateur à -20°C. jusqu'au dosage.

Défécation des tissus : On prélève rapidement 1 gramme de tissu environ que l'on met aussitôt dans de l'acide trichloracétique à 10 p. 100 froid. Après pesée, on complète à 10 g avec l'acide et on broie à 12 000 t/mn pendant 30 secondes. Après centrifugation le surnageant est prélevé et gardé à -20°C. jusqu'au moment de l'analyse où il est amené à pH 2,2.

Dosage : On introduit au sommet de la colonne 2 ml de filtrat provenant du plasma ou 2,5 ml de filtrat sanguin ou 5 ml de filtrat tissulaire, ainsi que 2 ml d'une solution 0,5 mM d'un amino-acide normalement absent de l'échantillon, qui sert de témoin interne pour le développement de la coloration. Nous avons retenu dans ce but la norleucine dans le cas de l'analyse des amino-acides acides et neutres ou de l'analyse sur colonne unique, et la carnosine dans le cas des amino-acides basiques, car ces composés sont bien séparés et n'interfèrent pas avec les amino-acides normaux.

Pour le sang et le plasma, la séparation des acides aminés acides et neutres s'effectue sur colonne de résine Beckman UR 30 (hauteur 55 cm) en présence de tampons de citrate de sodium avec un débit de 50 ml/h. On fait passer en premier lieu un tampon à pH 3,20 pendant 158 mn, puis un tampon à pH 4,26 ⁽¹⁾. La température est égale à 32°C au début de l'expérience, et ensuite à 62°C à partir de la 90ème minute, jusqu'à la fin de l'analyse (durée totale 320 minutes). Le circuit est alors rincé en faisant circuler pendant 30 minutes du tampon citrate à pH 3,20 ; ensuite on régénère la résine par passage de soude 0,2 N (qui entraîne les acides aminés basiques fixés sur la résine) puis du tampon citrate à pH 3,20. La résine est alors prête pour une nouvelle analyse.

La séparation des acides aminés basiques s'effectue sur colonne de résine Beckman M 81 (hauteur 23 cm) en présence de tampons de citrate de sodium avec un débit de 50 ml/h. On fait passer en premier lieu un tampon à pH 4,25 pendant 185 mn puis un tampon à pH 5,36 ⁽¹⁾. La température est égale à 33°C au début de l'expérience puis à 55°C à partir de la 185ème minute, température qui est maintenue jusqu'à la fin de l'analyse (durée totale 350 minutes). La résine est alors rincée au 1^{er} tampon et est prête pour une nouvelle analyse.

(1) Composition des tampons :

pH	3,20 $\pm$ 0,01	4,26 $\pm$ 0,02	4,25 $\pm$ 0,01	5,36 $\pm$ 0,01
Citrate de sodium, 2H ₂ O	39,2 g	39,2 g	74,5 g	68,65 g
HCl concentré, environ	25,55 ml	16,75 ml	30,5 ml	12,8 ml
Thiodiglycol	5 ml	5 ml	0	0
Acide caprylique	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
H ₂ O bidistillée q. s. p.	2 litres	2 litres	2 litres	2 litres

Nous n'avons employé pour ces réactifs que des produits de très haute pureté. De plus le pH de chaque tampon est ajusté avec soin.

Pour les tissus, nous opérons avec la résine Beckman M 82 (hauteur 55 cm) et nous éluons tous les acides aminés en une seule analyse, selon les modalités mises au point par KEDENBURG (107). Les tampons, au citrate de lithium, sont à pH 2,80 puis 4,10⁽¹⁾ au débit de 68 ml/h. La température est de 39°C, puis de 60°C (Changement de tampon et de température à 170 minutes. Durée totale de l'analyse 460 minutes). Après rinçage du circuit, la résine est régénérée par passage d'hydroxyde de lithium 0,2 N puis de tampon 2,80. La résine est alors prête pour une nouvelle analyse.

Développement de la coloration : Dans l'analyseur automatique, une pompe amène la ninhydrine à un débit de 25 ml/h (analyse sur 2 colonnes) et de 34 ml/h (analyse sur M 82), puis après mélange avec l'éluat de la colonne, la solution est chauffée au bain-marie à 100°C et passe ensuite dans un photolorimètre.

La solution de ninhydrine est préparée sous atmosphère d'azote (40 g de ninhydrine + 1,5 l de méthylcellosolve Merck + 0,8 g de chlorure stanneux + 500 ml de tampon acétate à pH 5,51⁽²⁾).

Le développement de la coloration n'est pas constant, bien que les conditions expérimentales aient été standardisées aussi rigoureusement que possible. Ceci paraît tenir à de minimes différences dans les lots des composés chimiques employés et en particulier du méthylcellosolve, bien que nous vérifions avant toute préparation de la solution que le

- (1) Composition des tampons :

pH	2,80 ± 0,01	4,10 ± 0,01
Citrate de lithium, 4 H ₂ O	30,1 g	120,4 g
Chlorure de lithium	11,9 g	47,6 g
Thiodiglycol	5 ml	5 ml
Acide caprylique	0,2 ml	0,2 ml
HCl concentré, environ	26,2 ml	52,2 ml
H ₂ O bidistillée q. s. p.	2 litres	2 litres

- (2) Composition du tampon acétate à pH 5,51 ± 0,03

Acétate de sodium, 3 H ₂ O	272 g
Acide acétique glacial	50 ml
H ₂ O bidistillée, q. s. p.	500 ml

méthylcellosolve est exempt de peroxydes. Aussi avons nous effectué systématiquement une analyse standard, pour chaque colonne, chaque fois que nous préparons la solution de ninhydrine, et nous avons fait coïncider ce renouvellement avec celui des tampons. Ceci nous a conduit à intercaler une analyse standard toutes les six analyses, en moyenne, et parfois davantage lorsqu'une anomalie semblait apparaître dans les résultats. De plus, lorsqu'après le renouvellement des solutions, deux analyses standards consécutives présentent des résultats hétérogènes et différents des résultats habituels, nous avons recommencé les réactifs avec de nouveaux produits.

Le vieillissement de la solution de la ninhydrine entraîne peu à peu une atténuation de la coloration : Les variations subies par les témoins internes indiquent l'évolution de la ninhydrine et permettent d'en tenir compte dans les calculs.

Compte tenu de ces précautions, il apparaît que les erreurs sur les solutions standards sont de l'ordre de grandeur de celles qui sont signalées par les auteurs, c'est-à-dire environ 5 p. 100. Nous avons vérifié qu'il en était de même si l'on effectue à quelques jours ou semaines d'intervalle la chromatographie d'un même échantillon de sang ou de plasma. On peut en juger d'après les exemples suivants :

Analyse	Plasma		Sang	
	A 115	A 121	A 58	A 61
Date	25.06.70	7.07.70	18.8.69	22.8.69
Glu	15,02	14,50	45,90	43,95
Gln	93,89	90,02	61,00	64,08
Thr	19,54	18,38	22,25	21,10
Gly	39,21	34,28	27,67	27,82
Ala	42,38	40,40	31,16	30,66
Val	17,55	-	13,17	13,28
Ile	10,59	8,59	8,51	9,65
Leu	15,67	13,64	13,10	-
Tyr	6,01	-	6,53	7,05
Phe	7,27	-	6,56	6,16

Il est à noter que le fait de dissocier la chromatographie des composés basiques de celles des composés acides et neutres d'un même échantillon n'affecte pas les résultats et permet légitimement les analyses statistiques. En effet, la tyrosine et la phénylalanine, qui sont éluées à la fin de l'analyse sur la grande colonne sortent au début de l'analyse sur

la petite colonne sous la forme d'un seul pic bien distinct. L'on peut donc comparer la somme des deux amino-acides, calculée dans le cas de la grande colonne et mesurée dans le cas de la petite. Les divergences sont minimales, comme on peut en juger d'après l'exemple suivant :

Analyses GC PC	Tyr + Phe (GC = A)	Tyr + Phe (PC = B)
A 51/ B 36	14, 36	15, 94
A 52/ B 39	12, 79	12, 80
A 53/ B 40	18, 84	18, 64
A 54/ B 41	12, 66	11, 50

Enregistrement et calculs : l'enregistrement des pics s'effectue grâce à l'inscription de points régulièrement espacés sur enregistreur Philipps (80 points en 6 minutes par cm de papier) sur un papier à coordonnées semi-logarithmiques. L'on peut ainsi assimiler les pics à des triangles, dont on détermine la surface en mesurant la demi-hauteur et la largeur.

Les calculs sont effectués en rapportant la surface de chaque pic du chromatogramme de l'échantillon inconnu à celle de chaque amino-acide correspondant de la solution standard. Pour tenir compte des différences individuelles survenant d'un chromatogramme à l'autre dans le développement de la coloration, on multiplie les résultats ainsi obtenus par le rapport des surfaces des témoins internes (norleucine ou carnosine) de l'échantillon inconnu et de la solution standard.

Lorsque les pics sont de petite taille, ou lorsqu'ils sont dissymétriques, il est nécessaire de recourir à une autre méthode: on mesure leur surface en les décomposant en petits trapèzes dont la base est de 3 mm. On compare la surface ainsi obtenue à celle du pic correspondant de la solution standard, mesurée dans les mêmes conditions. Cette méthode est fastidieuse et n'est précise que lorsque les pics sont de taille moyenne.

Il convient d'observer qu'une légère dissymétrie n'introduit pratiquement pas d'erreur dans le calcul par la première méthode, comme nous avons pu nous en assurer en comparant systématiquement les deux méthodes. L'exemple suivant se rapporte à la valine du plasma :

Analyse	Résultats en μ moles/100 ml de plasma		
	0,5 h x 1	décomposition	
A 6	15,54	16,24	+ 0,70
A 7	18,81	18,53	- 0,28
A 8	23,50	24,47	+ 0,97
A 10	17,52	16,63	- 0,89
A 11	16,98	17,50	+ 0,52
A 12	18,99	18,84	- 0,15
A 31	18,65	17,64	- 1,01
A 34	16,57	16,10	- 0,47
A 37	22,12	20,66	+ 1,56
A 41	16,62	17,13	+ 0,51
	Moyenne	16,65 $\pm$ 2,83	16,31 $\pm$ 1,97
Différence	$\Delta = 0,34$	$s_D = 3,4438$	$t = 0,10$ $p > 0,90$

Même dans le cas où la dissymétrie est assez marquée, comme pour l'arginine qui est le dernier composé élué parmi les basiques, l'accord des deux méthodes reste satisfaisant.

Pour les composés qui ne sont pas présents dans la solution standard, nous avons calculé la concentration en divisant la surface du pic par la surface moyenne des pics du standard correspondant à l'analyse, compte tenu d'une part du coefficient de correction lié aux standards internes, et d'autre part d'un coefficient de coloration déterminé expérimentalement selon la méthode de SPACKMAN, STEIN et MOORE (212).

CHAPITRE III

METHODES STATISTIQUES

A - MOYENNE ET ERREUR STANDARD DE LA MOYENNE

Nous avons calculé pour chaque série expérimentale la moyenne arithmétique ($\bar{x}$), ainsi que la variance (s^2) et l'erreur standard (s_M) estimées à partir de l'échantillon :

$$s^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$$s_M = \sqrt{\frac{1}{n} \left(\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1} \right)}$$

B - COEFFICIENT DE VARIATION (121, 122)

Pour rendre comparables les dispersions, nous avons calculé le coefficient de variation

$$C_V = \frac{100 \ s}{\bar{x}}$$

C - COMPARAISON DES VARIANCES (122)

La comparaison des variances 2 à 2 a été effectuée au moyen du test de SNEDECOR, en faisant le rapport de la plus grande variance à la plus petite :

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

L'homogénéité des variances d'un ensemble de plusieurs (k) séries expérimentales a été examinée au moyen du test de BARTLETT (test de χ^2) ; après avoir estimé la variance commune, s^2 , on calcule la différence entre s^2 et la somme des variances de chaque (s_1^2), compte

tenu des degrés de liberté de chaque série ($n_i - 1$) et de leur somme ($N - k$).

$$\chi^2 = 2.3026 \frac{(N-k) \log s^2 - \sum_{i=1}^k (n_i - 1) \log s_i^2}{\sum_{i=1}^k \frac{1}{(n_i - 1)} - \frac{1}{(N-k)}}$$

où $k = 1 + \frac{3(k-1)}{3(k-1)}$

Si la grandeur de χ^2 dépasse la limite de signification correspondant à $p = 0,05$, on rejette l'hypothèse selon laquelle les échantillons ayant la même variance, aux variations près, sont tirés d'une population unique.

D- ANALYSE DE LA VARIANCE ; COMPARAISON DES MOYENNES (122).

L'analyse de la variance est effectuée au moyen du test de SNÉDECOR. On compare, pour un ensemble de séries expérimentales, après en avoir calculé la moyenne commune M , la variance factorielle (V_F) à la variance résiduelle (V_R)

$$F = \frac{V_F}{V_R}$$

$$\text{où } V_F = \frac{\sum_{i=1}^k n_i (M - \bar{x}_i)^2}{k-1} \quad \text{et} \quad V_R = \frac{\sum_{i=1}^k (x_i - \bar{x}_i)^2}{N-k}$$

Si le rapport F dépasse la limite de signification correspondant à $p = 0,05$ pour $\nu = N-k$, on rejette l'hypothèse selon laquelle les échantillons, ayant la même moyenne, aux variations aléatoires près, sont tirés d'une population unique.

Dans le cas contraire, on procède à la comparaison des moyennes 2 à 2 au moyen du test t de STUDENT-FISCHER :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_D}$$

où s_D (erreur standard de la différence des moyennes) est calculé d'après la variance résiduelle précédemment obtenue

$$s_D = \sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) V_R}$$

Si le rapport t dépasse la limite de signification correspondant à $p = 0,05$ (pour $\nu = N-k$), on rejette l'hypothèse selon laquelle les deux échantillons, ayant la même moyenne, aux variations aléatoires près, sont tirés d'une population unique.

E- ETUDE DES CORRELATIONS ; CALCUL DU COEFFICIENT DE CORRELATION LINEAIRE ET DU COEFFICIENT DE SPEARMAN (122) .

Pour apprécier la corrélation susceptible d'exister entre deux constituants déterminés sur les animaux d'une même série expérimentale, nous avons calculé la covariance (p) ainsi que le coefficient de corrélation de BRAVAIS-PEARSON (r)

$$p = \frac{\sum (x - \bar{x}) (y - \bar{y})}{n-1}$$

$$r = \frac{p}{s_x s_y}$$

La sécurité des coefficients de corrélation ainsi calculés a été estimée après avoir transformé r en sa tangente hyperbolique, z

$$z = \frac{1}{2} \text{Log} \frac{1+r}{1-r}$$

La signification globale des coefficients de corrélation relatifs à une même paire de constituants dans un ensemble de plusieurs séries expérimentales a été dégagée par l'emploi du test de χ^2 .

En outre, dans certains cas, la dépendance relative de deux constituants a été vérifiée en comparant le coefficient de variation observé pour le rapport des deux variables avec le coefficient de variation théorique calculé par la formule :

$$C_{v_{x,y}} = \sqrt{C_{v_x}^2 + C_{v_y}^2}$$

Les corrélations de rang ont été mises en évidence en calculant le coefficient de corrélation de SPEARMAN

$$R = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n D_i^2}{n^3 - n}$$

où D_i^2 représente le carré de la différence des rangs occupés par chacune des valeurs x_i et y_i d'une même paire d'observations lorsque l'on ordonne indépendamment les observations relatives à chaque constituant dans un ordre croissant.

Cette méthode d'un emploi très rapide, nous a permis de détecter de nombreuses corrélations entre les divers composés α -aminés.

La corrélation partielle entre deux variables x et y lorsqu'une troisième, z , est supposée constante a été calculée à partir de leurs coefficients de corrélation respectifs

$$r_{xy, z} = \frac{r_{xy} - r_{xz} \cdot r_{yz}}{\left(\sqrt{1 - r_{xz}^2} \right) \left(\sqrt{1 - r_{yz}^2} \right)}$$

L'analyse des composants a été conduite par itération d'après la méthode de KENDALL (108) sur la matrice formée par les coefficients de corrélation. On détermine les variants indépendants ζ et leur variance λ . Si p est le nombre des variables

$$p = \sum_p \lambda$$

TROISIEME PARTIE

RESULTATS PERSONNELS

CHAPITRE I

MISE EN EVIDENCE DE L'HYPERAMINOACIDEMIE

SOUS L'INFLUENCE DE L'HYPERCAPNIE

Afin de mettre en évidence les variations des composés α -aminés du sang sous l'influence du CO_2 , nous avons procédé à l'étude cinétique comparative des effets observés chez des rats soumis, pendant des durées comprises entre 30 mn et 6 heures, à des conditions d'hypercapnie normoxique, d'hypercapnie hypoxique (ou asphyxie) et d'hypoxie. De cette façon, il est possible de distinguer les effets propres du CO_2 de ceux qui peuvent résulter de l'hypoxie par effet BOHR (24), dûs au déplacement de la courbe de saturation en oxygène par le CO_2 . Nous avons également effectué des expériences de normoxie, de façon à apporter la preuve que les variations observées ne sont pas la conséquence du séjour des animaux dans la cellule de notre dispositif expérimental.

A - EFFETS DU CO_2 SUR LE TAUX DES COMPOSES α -AMINES LIBRES TOTAUX DANS LE SANG DU RAT.

Les modifications des acides aminés du sang sous l'effet de l'hypercapnie figurent dans le tableau I, et l'on en trouvera en annexe dans le tableau (p.144) l'analyse statistique. On observe les faits suivants :

TABLEAU I

Influence de l'hypercapnie ($F_{\text{I}_{\text{CO}_2}} = 0,10$; $F_{\text{I}_{\text{O}_2}} = 0,21$)

sur la répartition de l'azote α -aminé dans le sang, le plasma et les hématies du Rat à jeûn.

Durée de l'expérience	Poids moyen (g)	Hématocrite	Azote aminé (mg/100 ml)		
			du sang	du plasma	des hématies
0.....	280	44,32	$9,66 \pm 0,32$ (8)	$8,84 \pm 0,49$ (11)	$11,78 \pm 0,51$ (8)
30 mn....	297	44,43	$12,29 \pm 0,32$ * (7)	$10,06 \pm 0,66$ (6)	$15,50 \pm 1,49$ * (5)
1 h.....	292	44,43	$11,73 \pm 0,77$ * (7)	$8,22 \pm 0,57$ (7)	$16,74 \pm 2,64$ * (6)
2 h.....	272	45,00	$11,29 \pm 0,72$ (8)	$9,02 \pm 0,48$ (8)	$14,06 \pm 1,36$ (8)
4 h.....	285	40,42	$11,21 \pm 0,42$ (7)	$8,20 \pm 0,27$ (7)	$16,11 \pm 1,47$ * (6)
6 h.....	297	43,58	$10,96 \pm 0,46$ (6)	$8,62 \pm 0,52$ (6)	$14,15 \pm 1,41$ (6)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard.

Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.

Les valeurs significativement différentes des témoins sont marquées d'un astérisque.

1. L'inhalation d'un mélange normoxique contenant 10 p. 100 d'anhydride carbonique provoque rapidement une augmentation nette et significative de l'amino-acidémie. Cette variation passe par un maximum au cours de la première heure de l'expérience, et régresse ensuite sensiblement.

2. Le taux de l'azote α -aminé du plasma évolue selon un processus diphasique : une hausse apparaît au début de l'expérience, mais cette augmentation ne dure pas, et les valeurs observées par la suite ne diffèrent pas significativement des valeurs témoins.

3. Exception faite de l'hyperaminoacidémie à la 30ème minute, imputable pour une part à la hausse du niveau plasmatique, l'élévation notée pour le taux de l'azote α -aminé dans le sang, sous l'influence de l'hypercapnie, paraît devoir être rapportée à la variation constamment positive de la teneur intraglobulaire telle qu'elle nous est connue par le calcul.

B - INFLUENCE DE L'APPAREILLAGE EMPLOYE SUR LES COMPOSES α -AMINES DU SANG.

Afin de nous assurer que le simple fait du séjour à l'intérieur de la cellule du montage expérimental n'était pas susceptible de provoquer des modifications que l'on aurait pu rapporter à l'effet des atmosphères gazeuses étudiées, nous avons procédé à des expériences au cours desquelles les animaux, placés dans le dispositif expérimental, respirent de l'air pendant une durée égale à celle des diverses épreuves d'hypercapnie.

Le tableau II montre que dans ces conditions de normoxie normocapnique, l'on n'observe aucune variation des composés α -aminés.

TABLEAU I I

*Influence du dispositif expérimental sur la répartition de l'azote α -aminé dans le sang, le plasma et les hématies du Rat à jeûn.
(Expériences de normoxie normocapnique)*

Durée de l'expérience (h)	Poids moyen (g)	Hématocrite	Azote aminé (mg.100 ml)		
			du sang	du plasma	des hématies
0.....	252	44,46	10,74 $\pm$ 0,36 (12)	8,79 $\pm$ 0,44 (11)	13,27 $\pm$ 0,83 (11)
1.....	251	44,08	10,69 $\pm$ 0,38 (11)	8,80 $\pm$ 0,49 (9)	13,05 $\pm$ 0,49 (9)
2.....	272	43,90	10,23 $\pm$ 0,31 (9)	8,79 $\pm$ 0,44 (9)	11,95 $\pm$ 0,91 (8)
4.....	305	43,50	10,45 $\pm$ 0,27 (9)	8,93 $\pm$ 0,28 (9)	12,41 $\pm$ 0,65 (9)
6.....	284	44,50	10,51 $\pm$ 0,33 (11)	8,88 $\pm$ 0,25 (11)	12,82 $\pm$ 0,40 (10)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard.
Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.

C - INFLUENCE DE L'HYPERCAPNIE SUR LE pH DU SANG, LA TEMPERATURE CENTRALE ET L'ACTIVITE DES ANIMAUX.

Comme la modification des composés α -aminés pourrait être la conséquence de trois effets du CO_2 , l'abaissement du pH sanguin (45) celui de la température (219) ou un effet anesthésique (14), nous avons procédé à l'étude de ces paramètres physiologiques dans les conditions de nos expériences.

Lorsque les animaux respirent pendant une heure un mélange hypercarbique ($F_{\text{I CO}_2} = 0,10$), le pH du sang passe de 7,45 à 7,33. En revanche, l'abaissement de la température est modeste (moins de $1^\circ\text{C}.$) ; ce résultat est conforme à celui de STUPFEL (219).

En ce qui concerne l'activité des animaux, il est manifeste, au vu des tracés actographiques que le CO_2 à la concentration de 10 p. 100 n'exerce aucun effet dépressif. Le comptage de l'activité ne montre aucun changement significatif ($1,3 \pm 0,5/\text{mn}$ contre $2 \pm 0,6/\text{mn}$ chez les témoins).

D - ETUDE DES EFFETS DE L'HYPOXIE.

L'inhalation d'une atmosphère hypercarbique entraîne chez les mammifères une hypoxie par effet Bohr, par suite du déplacement vers la droite de la courbe de dissociation de l'hémoglobine (24). Afin de dissocier les effets propres du CO_2 des conséquences éventuelles de l'hypoxie par effet Bohr, nous avons réalisé des expériences dans lesquelles on associe une hypoxie relativement modérée à l'hypercarbie, et nous avons comparé les résultats ainsi obtenus à ceux des essais conduits en hypercarbie normoxique ainsi qu'en hypoxie.

Les résultats expérimentaux relatifs à l'hypoxie sont rassemblés dans le tableau III et leur analyse statistique détaillée figure en annexe dans le tableau.XXXIX , p. 145

TABEAU III

Influence de l'hypoxie ($F_{\text{I O}_2} = 0,07$) sur la répartition de l'azote α -aminé dans le sang, le plasma et les hématies du Rat à jeûn.

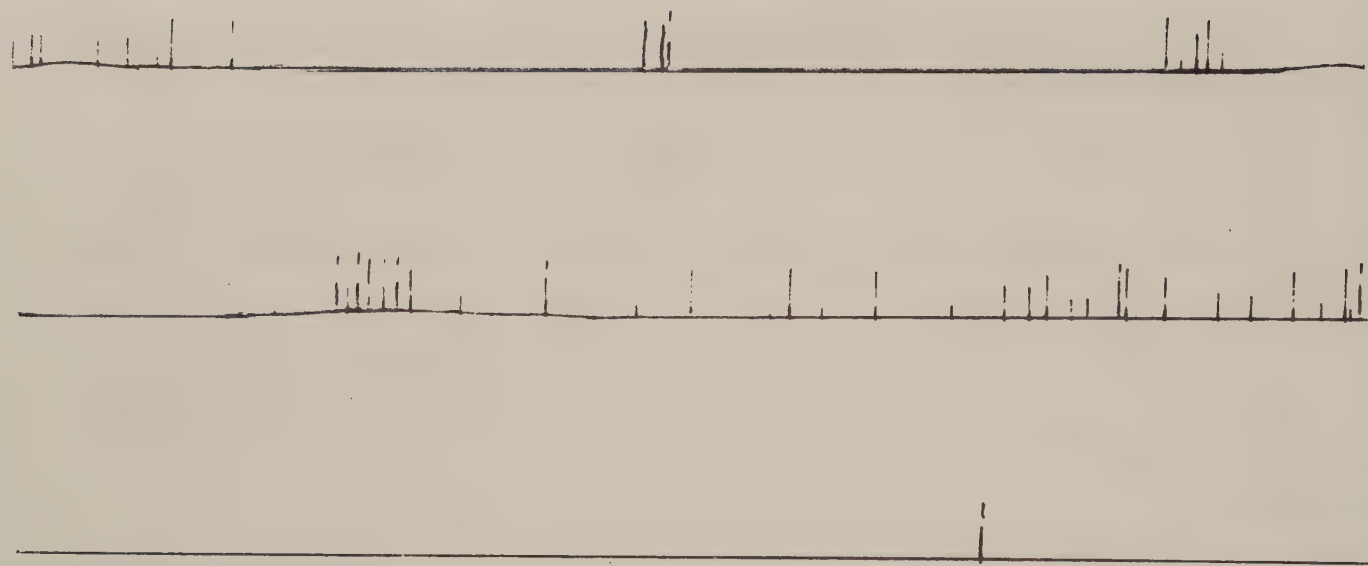
Durée de l'expérience	Poids moyen (g)	Hématocrite	Azote aminé (mg/100 ml)		
			du sang	du plasma	des hématies
0.....	279	41,55	$11,12 \pm 0,42$ (11)	$8,90 \pm 0,43$ (10)	$14,20 \pm 0,80$ (9)
30 mn....	278	45,31	$11,36 \pm 0,08$ (8)	$9,40 \pm 0,07$ (7)	$14,22 \pm 1,30$ (7)
1 h.....	273	41,45	$10,02 \pm 0,43$ * (7)	$7,72 \pm 0,58$ (7)	$12,90 \pm 0,71$ (6)
2 h.....	289	47,35	$10,75 \pm 0,45$ (6)	$9,30 \pm 0,85$ (7)	$12,95 \pm 0,78$ (6)
4 h.....	279	44,93	$9,46 \pm 0,06$ * (7)	$8,06 \pm 0,44$ (7)	$11,28 \pm 0,80$ * (6)
6 h.....	248	42,12	$9,23 \pm 0,35$ * (7)	$9,00 \pm 0,57$ (9)	$11,48 \pm 1,46$ * (6)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard.

Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.

Les valeurs significativement différentes des témoins sont marquées d'un astérisque.

RAT NORMOXIQUE



RAT HYPERCAPNIQUE

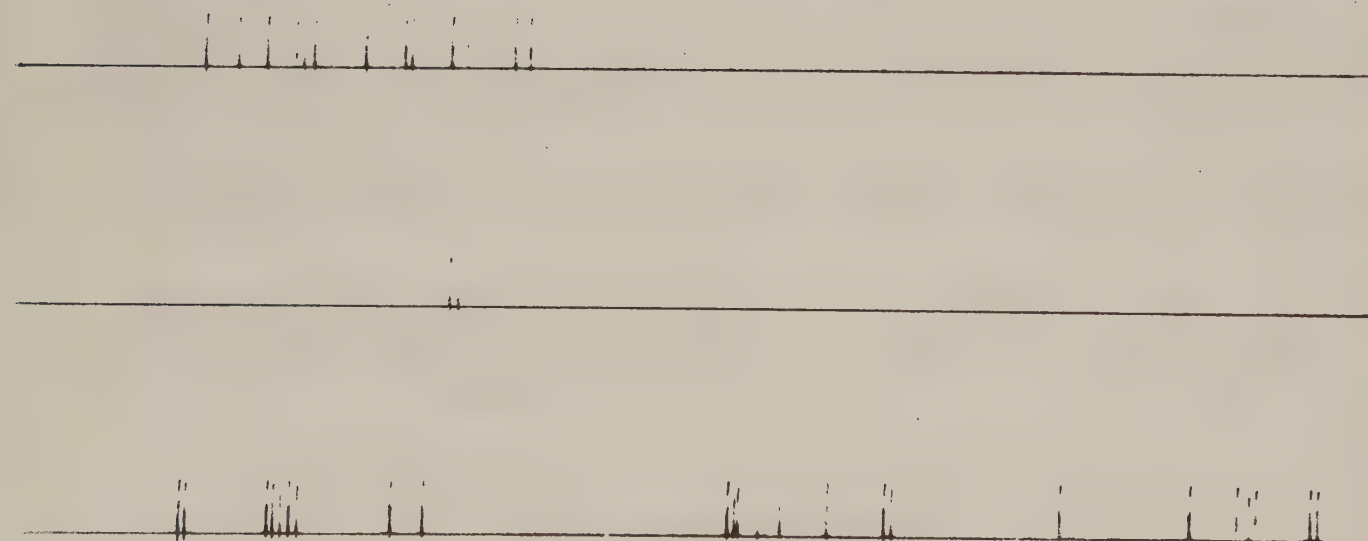


FIGURE 4

TRACE D'ACTIVITE DU RAT AU COURS DE L'HYPERCAPNIE

L'activité a été enregistrée avec le même animal : (rat Sherman mâle, poids 241 g.), respirant successivement de l'air, puis une atmosphère hypercarbique ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$)

Les tracés figurés ci-dessus ont été obtenus après 30 mn de séjour dans le dispositif - Vitesse constante de déroulement du papier : 1,5 cm par mn

Il apparaît d'emblée une opposition nette avec les résultats des expériences d'hypercarbie : l'effet caractéristique d'un abaissement modéré de la tension d'oxygène dans l'air inspiré est une diminution de l'azote α -aminé du sang total, qui se manifeste après une heure d'hypoxie et va en s'accroissant quand l'expérience se prolonge. La diminution de l'azote α -aminé reste limitée dans le plasma, alors qu'elle atteint 20,5 p. 100 dans les hématies, à partir de la quatrième heure d'expérience.

Si l'on associe l'hypoxie à l'hypercarbie, on retrouve en grande partie les résultats de l'hypercapnie proprement dite (tableau IV (1)). Ils sont toutefois atténués, soit que l'augmentation de l'azote α -aminé apparaisse plus tardivement, soit qu'elle régresse de façon plus marquée et s'annule même à partir de la quatrième heure de l'expérience en laissant place à une hypoacidémie du type hypoxique. En outre, une hausse tardive de l'azote α -aminé plasmatique est sans équivalent dans les expériences d'hypercapnie ou d'hypoxie.

TABLEAU IV

Influence de l'hypoxie hypercarbique ($F_{I_{CO_2}} \approx 0,10$; $F_{I_{O_2}} = 0,07$) sur la répartition de l'azote α -aminé dans le sang, le plasma et les hématies du Rat à jeûn

Durée de l'expérience	Poids moyen (g)	Hématocrite	Azote aminé (mg/100 ml)		
			du sang	du plasma	des hématies
0.....	281	44,23	$8,70 \pm 0,18$ (10)	$7,40 \pm 0,68$ (12)	$10,16 \pm 0,58$ (9)
30 mn....	283	46,70	$8,63 \pm 0,32$ (8)	$6,73 \pm 0,41$ (8)	$10,75 \pm 0,54$ (8)
1 h.....	286	48,70	$9,63 \pm 0,48$ * (8)	$7,04 \pm 0,41$ (9)	$12,73 \pm 1,39$ * (8)
2 h.....	282	45,00	$9,75 \pm 0,19$ * (8)	$7,35 \pm 0,58$ (8)	$12,96 \pm 0,96$ * (8)
4 h.....	274	46,62	$9,33 \pm 0,15$ (8)	$7,08 \pm 0,32$ (8)	$11,99 \pm 0,52$ (8)
6 h.....	241	48,50	$7,66 \pm 0,11$ * (8)	$8,01 \pm 0,73$ (7)	$7,37 \pm 1,17$ * (7)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard.
 Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.
 Les valeurs significativement différentes des témoins sont marquées d'un astérisque.

(1) La discussion statistique détaillée se trouve en annexe, tableau XL page 145).

En conclusion, le CO_2 (10 p. 100 dans l'air inspiré) provoque chez le rat une augmentation de la composante amino-acide du sang (Fig. 5 à 7). On observe cet effet dès la 30ème minute d'expérience, et il se prolonge pendant plusieurs heures. Il est dû à une augmentation transitoire de la concentration plasmatique des composés α -aminés, et à une augmentation plus durable de la concentration intraglobulaire. Ce phénomène n'est imputable, ni à l'hypoxie, ni à l'hypothermie.

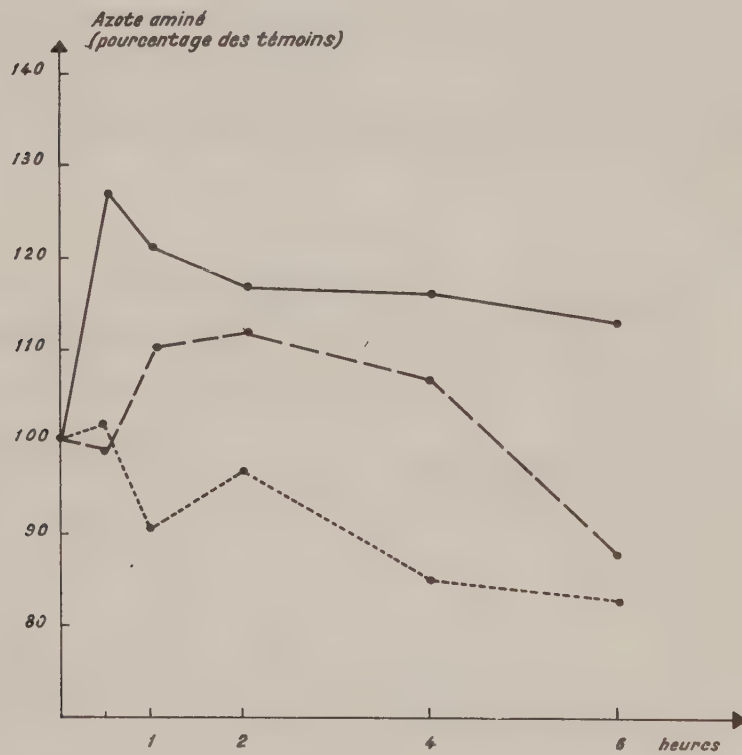


FIG. 5

Modifications de la composante amino-acide libre du sang total pendant l'hypercapnie (trait plein), l'hypoxie (petits tirets) et l'asphyxie (grands tirets).

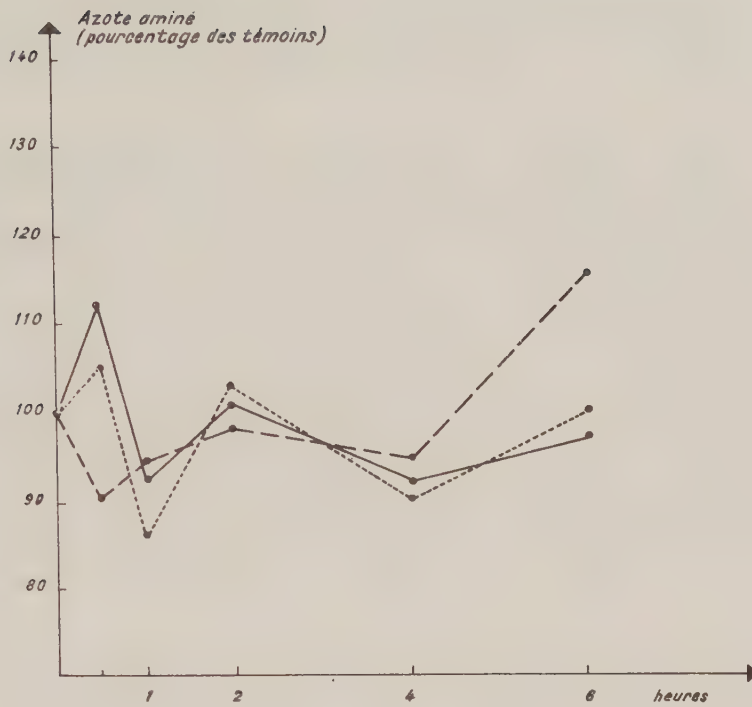


FIGURE 6

Modifications de la composante amino-acide libre du plasma pendant l'hypercapnie (trait plein), l'hypoxie (petits tirets) et l'asphyxie (grands tirets).

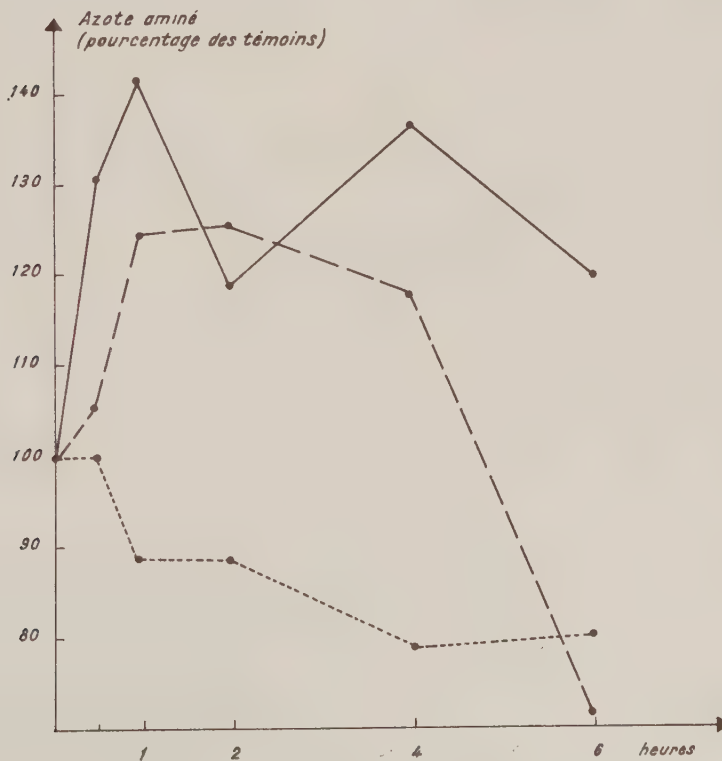


FIGURE 7

Modifications de la composante amino-acide libre des hématies pendant l'hypercapnie (trait plein), l'hypoxie (petits tirets) et l'asphyxie (grands tirets).

CHAPITRE II

LE NIVEAU INITIAL DES COMPOSÉS α -AMINÉS LIBRES DANS L'HYPERAMINOACIDÉMIE PROVOQUÉE PAR LE CO_2 - CORRELATION AVEC LES PROTÉINES PLASMATIQUES.

L'augmentation des composés α -aminés libres totaux dans le sang du rat sous l'influence de l'hypercapnie peut tenir à des causes multiples, notamment à des sorties tissulaires accrues d'acides aminés et à une moindre incorporation dans les protéines. Le niveau initial des amino-acides, augmenté après les repas et cela surtout dans les hématies (39-198) peut également jouer un rôle. Nous avons donc repris le stade le plus significatif dégagé lors de nos premières expériences, c'est-à-dire la première heure d'hypercarbure normoxique, en opérant simultanément sur des animaux normalement alimentés ou à jeûn depuis 18 heures. Nous avons en outre déterminé chez ces animaux les protéines sériques, et nous avons étudié, en calculant le coefficient de corrélation de BRAVAIS-PEARSON, les liens susceptibles d'exister entre les variations des acides aminés et celles des protéines.

Chez les animaux à jeûn, un séjour d'1 heure dans une enceinte contenant 10 p. 100 de CO_2 entraîne une augmentation des composés α -aminés dans le sang, par suite d'une augmentation du taux dans les hématies (tableau V (1)). Un tel résultat est analogue à celui que nous avons précédemment décrit (pp. 47-48)

TABLEAU V

Influence de l'hypercapnie sur la répartition de l'azote α -aminé dans le sang, le plasma et les hématies du Rat alimenté ou à jeûn.

Nature de l'expérience	Nombre d'animaux	Poids moyen	Hématocrite	Azote aminé		
				du sang	du plasma	des hématies
				mg/100 ml	mg/100 ml	mg/100 ml

ANIMAUX ALIMENTES							
h	$F_{I_{CO_2}} = 0,00$	13	279	43,50	$10,15 \pm 0,19$	$7,77 \pm 0,18$	$12,68 \pm 0,45$
	$F_{I_{CO_2}} = 0,10$	10	241	43,04	$10,93 \pm 0,43$	$8,19 \pm 0,26$	$14,42 \pm 0,80$
	$F_{I_{CO_2}} = 0,20$	10	232	43,82	$10,04 \pm 0,28$	$7,68 \pm 0,26$	$13,15 \pm 0,45$

ANIMAUX A JEUN							
h	$F_{I_{CO_2}} = 0,00$	9	326	43,40	$9,13 \pm 0,20$	$7,73 \pm 0,26$	$11,10 \pm 0,27$
	$F_{I_{CO_2}} = 0,10$	8	312	43,70	$11,16 \pm 0,24^*$	$7,68 \pm 0,16$	$15,86 \pm 0,72^*$
	$F_{I_{CO_2}} = 0,20$	6	338	44,75	$9,91 \pm 0,16^*$	$7,69 \pm 0,07$	$12,67 \pm 0,62^*$

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard.

Les valeurs significativement différentes des témoins sont marquées d'un astérisque. On observe une augmentation de l'azote α -aminé libre, plus marquée chez les animaux à jeûn que chez les animaux normalement alimentés.

(1) La discussion statistique détaillée se trouve en annexe, tableau XL1 p. 146

Chez les animaux alimentés, l'inhalation d'un mélange contenant 10 p. 100 de CO₂ entraîne également une augmentation des composés α-aminés libres totaux du plasma et des hématies. Pour les hématies, la variation est moins marquée que chez les animaux au jeûne, et de plus, l'importance relative de la hausse (+ 14 %) est amoindrie du fait que le niveau initial est plus élevé (12,68 mg / 100 ml. au lieu de 11,10).

On constate également que l'augmentation du taux de CO₂ dans l'air inspiré n'augmente pas les variations dues à l'hypercapnie ; au contraire, elles se trouvent atténuées.

Le taux des protéines plasmatiques n'est généralement pas affecté par l'hypercapnie, sauf dans le cas où des animaux alimentés inhalent pendant une heure un mélange contenant 20 p. 100 de CO₂ : on constate alors une diminution faible (- 6 %) mais significative (tableau VI). Ce n'est que lorsque l'hypoxie ajoute ses effets à ceux de l'hypercapnie que l'on observe une hypoprotéïnémie importante (tableau VII).

TABLEAU VI
Influence de l'hypercapnie sur le taux des protéines plasmatiques chez le rat alimenté ou à jeûn :

Nature de l'expérience	Protéines g/100 ml de plasma	Azote des protéines mg/100 ml de plasma	Ecart réduit (test t) et pro- babilité (p) de l'hypothèse nulle	
			t	p
<u>Animaux alimentés</u>				
$F_{I\text{CO}_2} = 0,00 \dots\dots$	$6,84 \pm 0,18$	1094		
$\left\{ F_{I\text{CO}_2} = 0,10 \dots\dots \right.$	$6,71 \pm 0,13$	1073	0,812	($> 0,40$)
$\left\{ F_{I\text{CO}_2} = 0,20 \dots\dots \right.$	$6,42 \pm 0,07$	1027	2,625	($< 0,05$)
<u>Animaux à jeûn</u>				
$F_{I\text{CO}_2} = 0,00 \dots\dots$	$6,21 \pm 0,15$	994		
$\left\{ F_{I\text{CO}_2} = 0,10 \dots\dots \right.$	$6,21 \pm 0,13$	994	0	
$\left\{ F_{I\text{CO}_2} = 0,20 \dots\dots \right.$	$6,52 \pm 0,14$	1043	1,422	($> 0,10$)

Les résultats sont exprimés, dans la 2ème colonne en grammes de protéines par 100 ml. de plasma, et dans la 3ème colonne, en mg d'azote protéique par 100 ml. de plasma, en multipliant les chiffres précédents par le coefficient 160. Ceci permet la comparaison des variations de l'azote protéique avec les variations de l'azote α-aminé libre total étudiées chez les mêmes animaux et rapportées dans le tableau V.

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses, l'astérisque désigne les valeurs significativement différentes des témoins : seule, la diminution notée chez les animaux alimentés respirant de l'air contenant avec 20 pour 1

TABLEAU VII

Influence de l'asphyxie (hypoxie hypercapnique) sur le taux des protéines plasmatiques chez le rat alimenté ou à jeûn

Caractéristiques de l'expérience	Protéines g/100 ml de plasma	Azote des protéines mg/100 ml de plasma	Ecart réduit (test t) et pro- babilité (p) de l'hypothèse nulle t p
<u>Animaux alimentés</u>			
$F_{I_{O_2}} = 0,21$; $F_{I_{CO_2}} = 0$	$6,58 \pm 0,13$ (13)	1053	
$F_{I_{O_2}} = 0,07$; $F_{I_{CO_2}} = 0,10$ (durée : 1 heure)	$5,91 \pm 0,11$ (8)	946 *	3,53 (< 0,01)
<u>Animaux à jeûn</u>			
$F_{I_{O_2}} = 0,21$; $F_{I_{CO_2}} = 0$	$6,48 \pm 0,13$ (5)	1037	
$F_{I_{O_2}} = 0,07$; $F_{I_{CO_2}} = 0,10$ (durée : 1 heure)	$5,87 \pm 0,10$ (7)	939 *	3,64 (< 0,01)

Les résultats sont exprimés, dans la 2ème colonne en grammes de protéines par 100 ml. de plasma, et dans la 3ème colonne, en mg d'azote protéique par 100 ml. de plasma, en multipliant les chiffres précédents par le coefficient 160. Le nombre des déterminations figure entre parenthèses. La protidémie diminue significativement chez les animaux alimentés et chez les animaux à jeûn.

Bien qu'il n'existe pas de corrélation entre les valeurs individuelles des protéines et celles des composés α -aminés libres plasmatiques (tableau VIII), on doit noter que, chez les animaux alimentés soumis à l'hypercapnie, le coefficient de corrélation devient négatif et significativement différent ($p < 0,05$) du coefficient de corrélation noté chez les témoins ; il devient aussi négatif chez les animaux à jeûn, lorsque $F_{I_{CO_2}} = 0,20$.

TABLEAU VIII.

Influence de l'hypercapnie sur la corrélation (coefficient de BRAVAIS - PEARSON)
entre l'azote protéique et l'azote aminé du plasma, chez le rat alimenté ou à jeûn.

Nature de l'expérience	Coefficient de corrélation (r) entre le niveau de l'azote protéique et celui de l'azote aminé.		
	du sang	du plasma	des hématies
<u>Animaux alimentés</u>			
$F_{IC0_2} = 0,00 \dots\dots$	0,13	0,35	0,23
1 h $\left\{ \begin{array}{l} F_{IC0_2} = 0,10 \dots\dots \\ F_{IC0_2} = 0,20 \dots\dots \end{array} \right.$	- 0,62 - 0,13	- 0,31 - 0,29	- 0,63 - 0,37
<u>Animaux à jeûn</u>			
$F_{IC0_2} = 0,00 \dots\dots$	0,53	0,04	0,52
1 h $\left\{ \begin{array}{l} F_{IC0_2} = 0,10 \dots\dots \\ F_{IC0_2} = 0,20 \dots\dots \end{array} \right.$	0,33 0,77	0,22 - 0,86 *	0,04 0,53

Les coefficients de corrélation ne sont pas statistiquement différents de zéro, à l'exception de la corrélation négative observée chez les animaux à jeûn ayant respiré pendant 1 heure une atmosphère contenant 20 pour 100 de CO_2 .

CHAPITRE III

ETUDE DES VARIATIONS SPECIFIQUES DES DIVERS AMINO-ACIDES ET DE CERTAINS COMPOSES AZOTES SOUS L'EFFET DU CO₂.

Le dosage des composés α -aminés libres totaux par la ninhydrine nous montre que ces molécules sont considérablement affectées par le CO₂.

Or dans le sang, il existe en abondance, à côté des acides aminés proprement dits, d'autres substances réagissant à la ninhydrine, telles que l'ammoniac, l'urée, le glutathion et la taurine. Nous avons eu recours aux techniques chromatographiques pour déterminer quels sont plus précisément les composés aminés dont le niveau est modifié au cours de l'hypercapnie.

A - EFFETS DE L'HYPERCAPNIE SUR LES COMPOSES α -AMINES DU SANG : CARACTERISATION DES AMINO-ACIDES PAR CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE ET PAR ELECTROCHROMATOGRAPHIE.

L'analyse des composés aminés conduit à des résultats identiques quelle que soit la méthode employée ; nous avons retrouvé tous les acides aminés signalés par d'autres auteurs dans le sang ou le plasma du rat.

La carte chromatographique du plasma est dominée par les fortes taches de la glutamine, de la lysine, de la glycine et de l'alanine ; viennent ensuite, dans l'ordre décroissant, la taurine, la thréonine, la sérine, le glutamate, la valine, la leucine et l'isoleucine ⁽¹⁾, l'arginine. De petites taches bien individualisées correspondent à la tyrosine, à la phénylalanine, à l'histidine, à la méthionine. D'autres amino-acides sont décelables : cystéine, aspartate ; leur concentration est faible.

On trouve dans les hématies les mêmes composés que dans le plasma ; les amino-acides basiques y paraissent toutefois plus concentrés.

(1) Ces deux acides aminés ne sont pas séparés.

TABLEAU IX

Variations des acides aminés du sang, du plasma et des hématies sous l'influence de l'hypercapnie
 ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure)
 Déterminations par chromatographie sur couche mince de cellulose

Nombre de déterminations	Sang 8	Plasma 13	Hématies 5
Asp			
Glu	-	--	--
Gln	-	+++	-
Thr	-		--
Ser		+	+
Gly	-		
Citr			
Ala	++	+	-
Val			
Cys			
Met			
Ile + Leu	-		
Tyr		--	
Phe		-	
Orn			
Lys	+		++
Trp			
His			
Arg			
Taur		+	

Les signes + ou - indiquent le pourcentage de chromatogrammes présentant pour chaque amino-acide une variation positive (+) ou négative (-) lorsque l'on compare le sang, le plasma ou les hématies d'un animal hypercapnique à celui d'un animal témoin traité simultanément.

+++	pourcentage	0,75
++		0,50
+		0,25

L'hypercapnie ($FI_{CO_2} = 0,10$; durée 1 heure) ne provoque l'apparition d'aucun composé nouveau. Seuls, quelques acides aminés, déjà présents chez le rat normal, montrent des modifications quantitatives. Comme le montre le tableau IX, dans le plasma, la majoration de la glutamine est constante et importante. Les taches de l'alanine; de la taurine et de la sérine sont souvent plus accusées chez le rat hypercapnique que chez le rat normal. La tyrosine est, dans la plupart des cas, très réduite, ainsi que le glutamate.

Dans les hématies, l'hypercapnie suscite une nette augmentation de la lysine, ainsi que de la sérine. Le glutamate et la thréonine sont fortement diminués.

Les résultats obtenus sont en bon accord avec ceux des dosages par chromatographie sur colonne, que nous allons rapporter ci-après.

B - DETERMINATION QUANTITATIVE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE DES MODIFICATIONS DES ACIDES AMINES PROVOQUEES PAR L'HYPERCAPNIE.

La difficulté d'obtenir des résultats quantitatifs précis avec les méthodes de chromatographie sur papier ou sur couche mince de cellulose n'existe pas avec les méthodes de chromatographie par échange d'ions sur double colonne. Nous avons pu procéder à deux séries d'expériences, séparées par un an d'intervalle. Dans la première série d'essais, la détermination n'a porté que sur le plasma. Dans la deuxième série d'essais, nous avons effectué la détermination des amino-acides non seulement dans le plasma, mais également dans le sang total, après avoir mis au point le procédé de défécation le plus approprié. De la sorte, nous avons pu calculer les teneurs des érythrocytes en amino-acides, à l'aide de l'hématocrite, sauf pour le glutamate dont les pics sont, dans l'analyse du sang, confondus avec ceux du glutathion.

Les résultats de ces deux séries d'essais sont, en ce qui concerne le plasma du rat normal, sensiblement comparables (tableaux X et XI). Une exception porte sur le taux de l'alanine et du glutamate qui sont plus élevés dans la première série d'essais et sur celui de la glutamine qui est beaucoup plus faible.

TABLEAU X

Effets de l'hypercapnie ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure) sur les composés α -aminés :

1ère série d'expériences (1968)

	Composés α -aminés du plasma (μ moles / 100 ml.)		Ecart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle.	
	Normaux	CO_2	t	p
Nombre d'expériences	(9)	(8)		
Asp	4,37 $\pm$ 0,23 (7)	4,19 $\pm$ 0,62 (6)	0,29	($> 0,70$)
Glu	52,26 $\pm$ 1,53 (7)	48,10 $\pm$ 2,85 (6)	1,34	($> 0,20$)
Gln	23,72 $\pm$ 2,27 (7)	29,56 $\pm$ 1,50 (7)	1,33	($> 0,20$)
Thr	26,60 $\pm$ 1,60 (7)	31,93 $\pm$ 1,50 (7) *	2,24	($< 0,05$)
Ser	31,40 $\pm$ 0,99 (7)	38,02 $\pm$ 3,14 (7)	2,01	($> 0,05$)
Gly	37,14 $\pm$ 2,18 (7)	36,95 $\pm$ 1,93 (7)	0,06	($> 0,90$)
Citr	5,32 $\pm$ 0,54 (7)	5,33 $\pm$ 0,42 (5)	0,01	
Ala	46,18 $\pm$ 3,19 (7)	51,77 $\pm$ 1,36 (7)	1,51	($> 0,10$)
Val	20,72 $\pm$ 1,61 (7)	18,92 $\pm$ 1,29 (7)	0,87	($> 0,40$)
Cys	3,72 $\pm$ 1,04 (6)	3,57 $\pm$ 0,52 (7)	0,73	($> 0,40$)
Met	6,53 $\pm$ 0,40 (7)	5,72 $\pm$ 0,29 (8)	1,66	($> 0,10$)
Ile	12,25 $\pm$ 0,43 (7)	11,30 $\pm$ 0,77 (8)	1,36	($> 0,20$)
Leu	19,54 $\pm$ 0,86 (7)	17,19 $\pm$ 0,91 (8)	1,86	($> 0,05$)
Tyr	8,90 $\pm$ 0,36 (6)	8,28 $\pm$ 0,38 (7)	1,17	($> 0,20$)
Phe	9,08 $\pm$ 0,27 (6)	8,10 $\pm$ 0,32 (7) *	2,34	($< 0,05$)
Orn	4,68 $\pm$ 0,49 (5)	5,36 $\pm$ 0,26 (4)	1,13	($> 0,20$)
Lys	50,13 $\pm$ 3,15 (5)	58,05 $\pm$ 3,04 (5)	1,81	($> 0,10$)
His	9,54 $\pm$ 0,87 (4)	10,03 $\pm$ 0,26 (4)	0,54	($> 0,60$)
Arg	17,85 $\pm$ 2,20 (4)	17,06 $\pm$ 1,18 (4)	0,32	($> 0,70$)
Taur	42,55 $\pm$ 1,72 (7)	45,04 $\pm$ 0,80 (6)	1,23	($> 0,20$)
Urée	491,35 $\pm$ 36,95 (6)	508,48 $\pm$ 39,96 (8)	1,43	($> 0,10$)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($X \pm s M$) ; le nombre des déterminations figure entre parenthèses. Les valeurs significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 5 pour 100 ; elles sont signalées par un astérisque.

TABLEAU XI

Effets de l'Hypercapnie ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure) sur les
composés α -aminés du plasma du Rat à jeûn.

2ème série d'expériences (1969)

	Composés α -aminés du plasma (μ moles / 100 ml/)		Ecart réduit (t) et probabili- té (p) de l'hypothèse nulle.			
	Normaux	CO ₂	v_R	t	p	
Nombre d'expériences	(18)	(13)				
Glu	20,54 $\pm$ 1,89 (12)	13,03 $\pm$ 0,86* (8)	25	2,98	($< 0,01$)	
Gln	84,04 $\pm$ 3,22 (10)	89,85 $\pm$ 6,03 (9)	25	0,81	($> 0,40$)	
Thr	24,10 $\pm$ 0,94 (12)	25,20 $\pm$ 1,35 (10)	28	0,69	($> 0,50$)	
Ser	31,31 $\pm$ 1,19 (12)	38,67 $\pm$ 3,53* (10)	28	2,41	($< 0,05$)	
Gly	36,77 $\pm$ 1,42 (12)	38,13 $\pm$ 4,78 (9)	27	0,34	($> 0,70$)	
Ala	34,71 $\pm$ 1,46 (11)	40,82 $\pm$ 2,61* (9)	25	2,43	($< 0,05$)	
Val	16,44 $\pm$ 1,90 (12)	17,24 $\pm$ 2,19 (6)	23	0,28	($> 0,70$)	
Met	5,61 $\pm$ 0,20 (12)	5,61 $\pm$ 0,52 (7)	23	0		
Ile	10,78 $\pm$ 1,18 (12)	10,33 $\pm$ 0,86 (8)	25	0,31	($> 0,70$)	
Leu	17,90 $\pm$ 1,05 (11)	17,30 $\pm$ 1,52 (8)	24	0,32	($> 0,70$)	
Tyr	7,74 $\pm$ 0,42 (12)	5,72 $\pm$ 0,33* (7)	24	3,34	($< 0,01$)	
Phe	7,89 $\pm$ 0,48 (12)	6,47 $\pm$ 0,44 (7)	24	1,99	($> 0,05$)	
Orn	4,38 $\pm$ 0,57 (9)	4,94 $\pm$ 0,75 (5)	17	0,64	($> 0,50$)	
Lys	45,48 $\pm$ 3,01 (9)	51,17 $\pm$ 3,15 (7)	21	1,33	($> 0,20$)	
His	11,99 $\pm$ 0,88 (9)	11,36 $\pm$ 1,79 (7)	21	0,34	($> 0,70$)	
Arg	14,63 $\pm$ 1,31 (6)	16,77 $\pm$ 0,97 (6)	16	1,29	($> 0,20$)	
Taur	38,60 $\pm$ 2,39 (12)	45,22 $\pm$ 4,11 (10)	28	1,62	($> 0,10$)	

Le nombre des degrés de liberté (v_R) a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque.

Des différences semblables ont déjà été signalées dans la littérature, comme l'on peut en juger d'après les données que nous avons rassemblées dans l'annexe I (tableaux XXXI à XXXIII, pp. 127 à 132).

Les molécules les mieux représentées dans le plasma du rat sont la glutamine, qui constitue 20 pour 100 du total des amino-acides et des molécules apparentées, puis la lysine, l'alanine, la glycine, la sérine et la thréonine ; ces cinq molécules correspondent à 40 pour 100 des amino-acides plasmatiques.

Les concentrations des autres amino-acides plasmatiques sont plus réduites ; certaines sont si faibles que la détermination quantitative ne peut être qu'imprécise. Le tryptophane, la 3-méthylhistidine et l'acide α -amino-butérique se trouvent dans ce cas, ainsi que la cystine et l'ornithine dans une moindre mesure.

Les valeurs obtenues lors des dosages portant sur le sang total (tableau XII) sont dans l'ensemble assez satisfaisantes, à l'exception de l'aspartate et du glutamate nettement contaminés par les différentes formes du glutathion. Le taux réel de l'aspartate peut être déterminé en oxydant le glutathion, ce que nous avons réalisé dans un certain nombre de dosages.

Les valeurs intraglobulaires, ne diffèrent généralement guère des valeurs plasmatiques. Seules la lysine et l'arginine sont nettement plus abondantes dans les hématies.

Les effets du CO_2 sont comparables d'une série à l'autre (tableau XIII).

TABLEAU XII

Effet de l'hypercapnie ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure) sur les composés α - aminés du sang du Rat à jeûn.

2ème série d'expériences (1969)

	Composés α -aminés du sang (μ moles / 100 ml.)		Ecart réduit (t) et probabi- lité (p) de l'hypothèse nulle.		
	Normaux	CO ₂	ν_R	t	p
Nombre d'expériences	(18)	(13)			
Glu + GSSG	73,13 $\pm$ 8,81 (11)	63,97 $\pm$ 11,03 (8)	28	0,69	($>0,50$)
Gln	77,29 $\pm$ 6,51 (11)	58,85 $\pm$ 11,69 (7)	29	1,71	($>0,05$)
Thr	23,42 $\pm$ 1,19 (11)	22,91 $\pm$ 0,95 (8)	30	1,23	($>0,20$)
Ser	29,10 $\pm$ 0,42 (10)	30,53 $\pm$ 1,18 (8)	28	0,83	($>0,40$)
Gly	38,03 $\pm$ 2,07 (11)	33,60 $\pm$ 2,13 (8)	31	1,45	($>0,10$)
Ala	33,26 $\pm$ 1,71 (11)	39,88 $\pm$ 2,08 (8)	29	1,76	($>0,05$)
Val	16,11 $\pm$ 1,10 (11)	16,05 $\pm$ 1,21 (8)	29	0,04	($>0,90$)
Met	5,13 $\pm$ 0,30 (10)	4,61 $\pm$ 0,20 (8)	27	1,40	($>0,10$)
Ile	10,81 $\pm$ 0,79 (10)	9,72 $\pm$ 0,59 (8)	28	1,19	($>0,20$)
Leu	16,77 $\pm$ 1,25 (10)	15,37 $\pm$ 1,05 (8)	28	0,90	($>0,30$)
Tyr	6,37 $\pm$ 0,19 (8)	6,50 $\pm$ 0,31 (8)	26	0,39	($>0,70$)
Phe	7,18 $\pm$ 0,38 (9)	6,24 $\pm$ 0,32 (8)	26	1,65	($>0,10$)
Orn	4,30 $\pm$ 0,25 (9)	4,75 $\pm$ 0,30 (7)	27	1,01	($>0,30$)
Lys	56,80 $\pm$ 3,25 (9)	58,10 $\pm$ 1,90 (7)	26	0,38	($>0,70$)
His	11,59 $\pm$ 0,96 (9)	11,27 $\pm$ 1,18 (6)	24	0,14	($>0,80$)
Arg	25,49 $\pm$ 1,54 (9)	25,56 $\pm$ 1,50 (8)	27	0,51	($>0,60$)
Taur	49,37 $\pm$ 3,52 (11)	44,69 $\pm$ 3,40 (7)	28	1,02	($>0,30$)

Le nombre des degrés de liberté (ν_R) a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Aucune différence n'est significative : la probabilité de l'hypothèse nulle est toujours supérieure à 0,05.

TABLEAU XIII

Effet de l'hypercapnie ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure) sur les composés α -aminés des hématies du Rat à jeûn

2ème série d'expériences (1969)

	Composés α -aminés des hématies (μ moles / 100 ml.)		Ecart réduit (t) et probabilité (t) de l'hypothèse nulle.		
	Normaux	CO ₂	ν_R	t	p
Nombre d'expériences	(18)	(13)			
Thr	29,07 $\pm$ 2,47 (8)	22,78 $\pm$ 1,67 (6)	20	2,16	(< 0,05)
Ser	25,50 $\pm$ 1,53 (7)	28,81 $\pm$ 1,10 (6)	18	0,95	(> 0,30)
Gly	42,60 $\pm$ 4,83 (8)	28,44 $\pm$ 1,06 (6)	20	2,29	(< 0,05)
Ala	32,70 $\pm$ 3,58 (8)	32,08 $\pm$ 2,95 (6)	18	0,14	(> 0,90)
Val	15,31 $\pm$ 1,52 (8)	17,17 $\pm$ 6,38 (3)	15	0,52	(> 0,60)
Met	4,99 $\pm$ 0,79 (6)	3,16 $\pm$ 0,81 (4)	12	1,46	(> 0,10)
Ile	10,02 $\pm$ 1,23 (7)	9,74 $\pm$ 1,29 (6)	17	0,17	(> 0,80)
Leu	14,73 $\pm$ 2,00 (7)	15,68 $\pm$ 1,77 (6)	17	0,38	(> 0,70)
Tyr	6,39 $\pm$ 0,98 (7)	6,14 $\pm$ 1,17 (5)	16	0,18	(> 0,80)
Phe	5,39 $\pm$ 0,59 (7)	5,91 $\pm$ 0,73 (4)	15	0,33	(> 0,70)
Orn	3,64 $\pm$ 0,92 (5)	2,37 (2)	9	1,08	(> 0,30)
Lys	62,22 $\pm$ 3,09 (4)	66,43 $\pm$ 5,65 (4)	12	0,65	(> 0,50)
His	11,97 $\pm$ 1,37 (5)	8,99 (2)	10	1,22	(> 0,20)
Arg	39,20 $\pm$ 4,65 (3)	38,39 $\pm$ 2,49 (3)	9	0,12	(> 0,90)
Taur	56,03 $\pm$ 4,47 (7)	42,11 $\pm$ 4,76 (5)	17	2,09	(> 0,05)

Le nombre des degrés de liberté (ν_R) a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque.

On observe avec le CO_2 une augmentation des niveaux plasmatiques de la thréonine (1), et surtout de la sérine (+ 21 %) et de l'alanine (+ 17 %). Cette hausse plasmatique s'accompagne d'une chute du taux intraglobulaire de la thréonine et de la glycine. En revanche, les variations de la valine, de la leucine et de l'isoleucine sont modestes et inconstantes.

C'est une nette diminution des taux plasmatiques que l'on relève dans le cas de la phénylalanine et de la tyrosine.

Dans le groupe des acides aminés dicarboxyliques, si les variations de l'acide aspartique sont difficiles à apprécier, en raison du faible niveau de ce composé, par contre l'acide glutamique subit une diminution importante et significative. Le glutamate intraglobulaire paraît également diminué, mais la présence de glutathion oxydé dans cette zone du chromatogramme restreint la portée de cette remarque.

Le groupe des amino-acides diamminés n'offre pas de variations importantes, exception faite de la lysine, dont la concentration plasmatique est fortement augmentée.

Parmi les autres composés α -aminés dosés, la taurine et la glutamine plasmatiques présentent des variations positives qui toutefois ne sont pas statistiquement significatives.

C - MODIFICATION PAR L'HYPERCAPNIE DES CORRELATIONS EXISTANT ENTRE LES AMINO-ACIDES DU SANG.

I - Dans le cas du rat normal l'examen des coefficients de corrélation (tableaux XIV à XVI) fait apparaître un certain nombre de liens entre plusieurs amino-acides du sang. On peut reconnaître les groupes suivants :

a) les acides aminés à chaîne ramifiée (valine, isoleucine, leucine) ont des coefficients de corrélation très élevés aussi bien dans le plasma que dans les hématies (et par conséquent dans le sang total), malgré d'amples variations des niveaux d'un individu à l'autre, objectivées par la figure 8. Ces variations ne sont pas en corrélation statistique avec le poids des animaux, et ne peuvent pas être mises en rapport avec des modifications du régime alimentaire, puisque tous les rats de cette série ont reçu la même alimentation et sont mis au jeûne dans les mêmes conditions.

La phénylalanine se trouve associée à ces amino-acides à chaîne ramifiée, ainsi que la plupart des autres amino-acides essentiels, mais les coefficients de corrélation sont moins élevés, et parfois non significatifs. Lorsque l'on procède à une analyse de composants sur la matrice

(1) L'augmentation de la thréonine n'est importante (+ 20 %) et significative que dans la première série d'expériences.

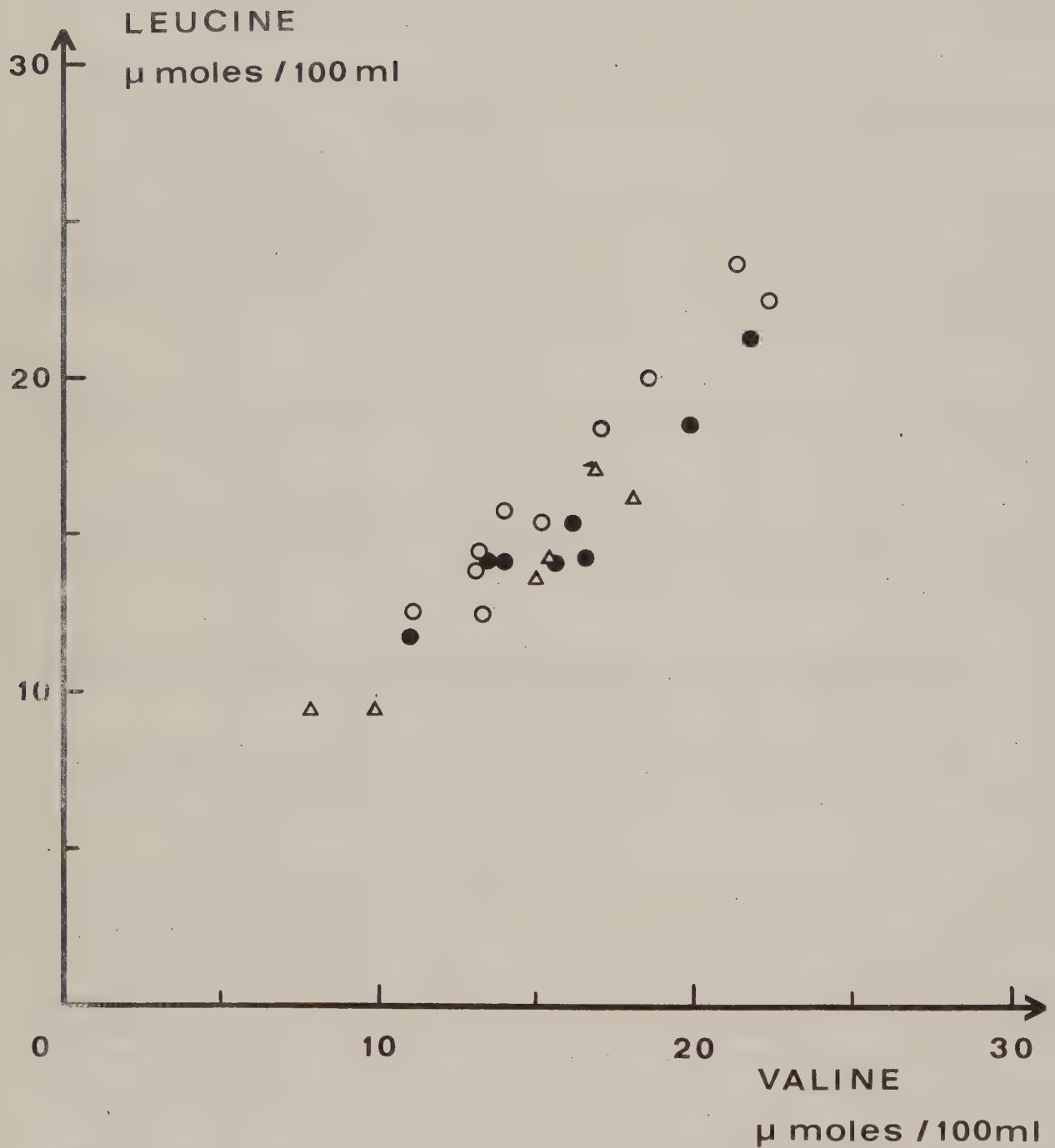


FIGURE 8

Corrélation entre la leucine et la valine dans le sang du rat, les cercles blancs correspondent aux rats normaux, les cercles noirs aux rats hypercapniques, les triangles aux rats hypercapniques traités par la métyrapone

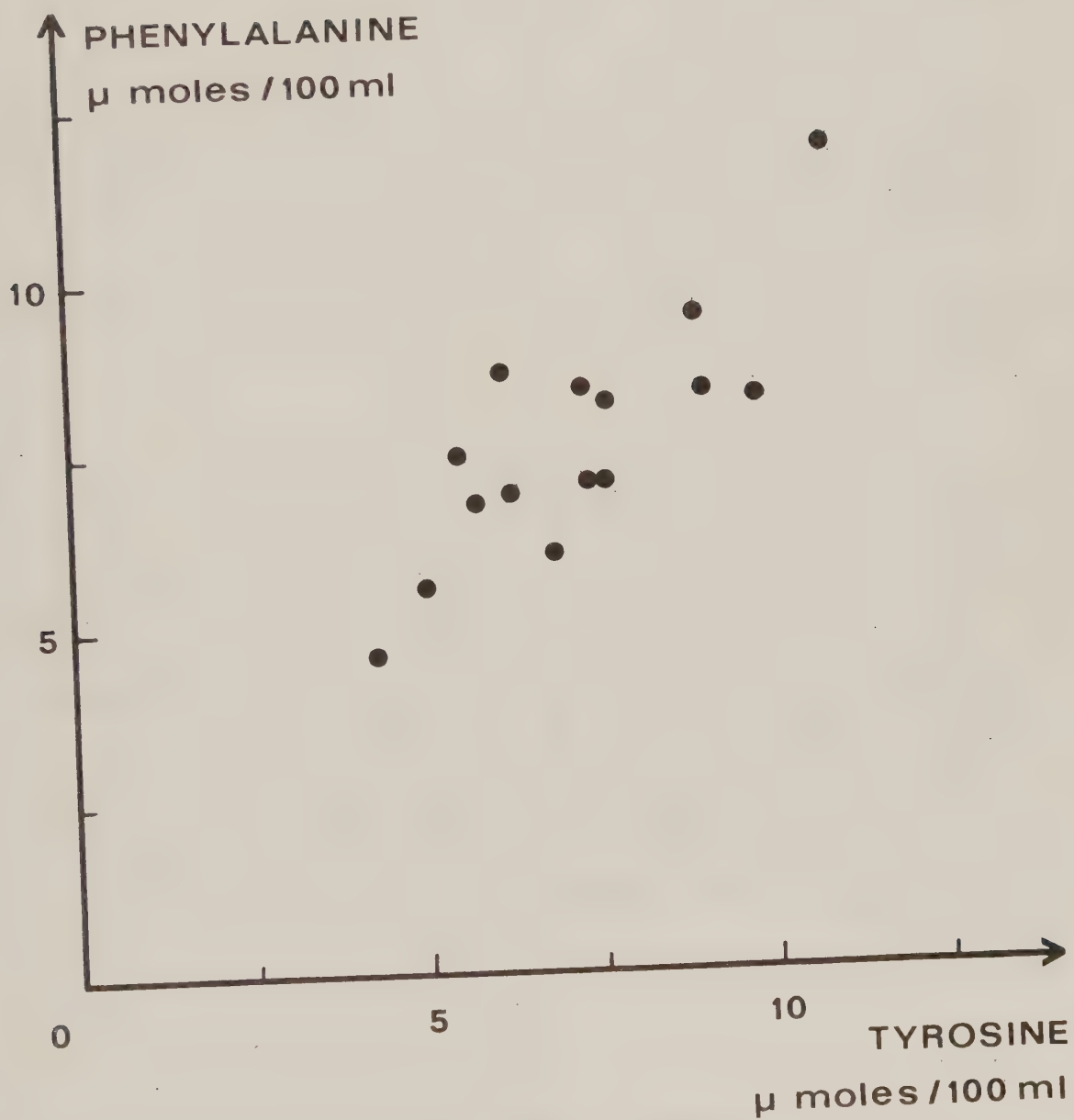


FIGURE 9

Corrélation entre la phénylalanine et la tyrosine du plasma chez le rat hypercapnique

formée avec les coefficients de corrélation, l'on fait apparaître dans le groupe des amino-acides branchés l'existence de deux facteurs indépendants, dont l'un contribue pour 87 pour 100 à la variance ($p = 3$, $\lambda_1 = 2,60$, $\lambda_2 = 0,38$). L'addition de la phénylalanine à la matrice des corrélations n'atténue pas sensiblement la prépondérance du premier facteur, qui contribue encore pour 82 pour 100 à la variance. Si l'on procède à la même analyse sur l'ensemble des amino-acides essentiels, on met en évidence l'existence de plusieurs facteurs ($\lambda_1 = 4,34$; $\lambda_2 = 1,61$; $\lambda_3 = 0,87$; $\lambda_4 = 0,22$. $p = 7$).

b) Les autres amino-acides n'ont entre eux que des liens assez faibles ; tel est le cas du groupe alanine-glycine-sérine. Ils sont parfois en corrélation avec l'un ou l'autre des amino-acides essentiels ; par exemple la glycine est en corrélation avec la leucine et l'isoleucine, l'alanine est en corrélation avec l'isoleucine et la phénylalanine.

c) Dans les hématies, outre les corrélations entre les amino-acides ramifiés et la phénylalanine, on observe une corrélation de l'alanine et de la sérine avec les amino-acides essentiels.

2 - Dans le cas du rat hypercapnique (tableaux XVII à XIX), les corrélations notées entre les amino-acides ramifiés persistent dans les hématies, mais s'atténuent dans le plasma. Plus généralement, les coefficients de corrélations entre les amino-acides essentiels diminuent. Des corrélations significatives nouvelles apparaissent, d'une part entre la phénylalanine et la tyrosine ($r = 0,89$; $p < 0,01$), d'autre part entre la thréonine, la sérine, la glycine ; dans ce dernier groupe, l'analyse des composants révèle l'intervention de deux facteurs indépendants dont l'un est prépondérant⁽¹⁾ ($p = 3$, $\lambda_1 = 2,43$, $\lambda_2 = 0,58$). De plus, il existe une corrélation positive entre l'alanine plasmatique d'une part, et le glutamate ou la tyrosine d'autre part, bien que le niveau moyen de l'alanine s'élève lors de l'hypercapnie, alors que celui du glutamate ou de la tyrosine s'abaisse ; en revanche il n'y a pas de corrélation entre les variations individuelles du glutamate et celles de la tyrosine ($r = 0,08$).

(1) à noter également que le coefficient de corrélation partielle entre la sérine et la glycine est nul ($r = 0,006$) lorsque la thréonine est supposée invariable.

TABLEAU XIV

Corrélations entre les acides aminés du sang du Rat normal, à jeûn. Les coefficients significativement différents de zéro sont marqués d'un astérisque ($p < 0.05$) ou de deux astérisques ($p < 0.01$)

	Glu	Gln	Thr	Ser	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Orn	Lys	His	Arg	Taur	Poids
Gln	0.15																	
Thr	-	0.47																
Ser	0.34	0.45	0.48															
Gly	0.50	0.71*	0.21	0.41														
Ala	0.05	0.26	0.09	0.41	0.53													
Val	0.30	0.41	0.30	0.14	0.40	0.01												
Met	0.30	0.42	0.23	0.71*	0.44	0.59	0.45											
Ile	0.27	0.59	0.24	0.26	0.55	0.09	0.95**	0.54										
Leu	0.82	0.54	0.25	0.17	0.45	0.10	0.97**	0.46	0.98**									
Tyr	0.35	0.64	0.42	0.84**	0.49	0.19	0.41	0.77**	0.54	0.42								
Phe	-	0.17	0.25	0.40	0.60	0.60	0.62	0.62	0.70*	0.69*	0.40							
Orn	0.29	0.11	0.27	0.43	0.54	0.43	0.00	0.13	0.06	0.01	0.11	0.66						
Lys	0.20	0.55	0.17	0.34	0.60	0.19	- 0.26	- 0.19	- 0.02	- 0.15	0.22	0.12	0.54					
His	0.76*	0.52	0.25	0.29	0.62	- 0.04	0.87**	0.48	0.94**	0.91**	0.56	0.48	-	0.01	0.15			
Arg	0.18	0.83*	0.34	0.50	0.65	0.46	- 0.19	0.14	0.06	0.10	0.40	0.05	0.37	0.81**	0.14			
Taur	0.35	0.55	0.34	0.58	0.55	0.21	0.49	0.82**	0.59	0.48	0.74*	0.55	0.08	0.15	0.88**	0.33		
Poids	-	0.73	0.19	0.28	- 0.01	0.00	0.26	0.26	0.27	0.29	0.15	0.28	-	0.55	0.41	-	0.31	0.32
Hct	0.36	- 0.41	- 0.05	- 0.03	- 0.24	0.05	0.13	0.13	- 0.14	0.07	- 0.04	- 0.28	-	0.40	0.88**	-	0.56	- 0.11

Les corrélations ont été établies sur 10 valeurs, sauf pour la tyrosine et les amino - acides basiques (9 valeurs)

TABLEAU XV

Corrélations entre les acides aminés du plasma du Rat normal - Les coefficients significativement différents de zéro sont marqués d'un astérisque ($p < 0.05$) ou de deux astérisques ($p < 0.01$)

	Glu	Gln	Thr	Ser	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Orn	Lys	His	Taur	Poids
Gln	- 0.31																
Thr	- 0.20	- 0.42															
Ser	0.20	0.02	0.06														
Gly	- 0.36	0.19	0.17	-0.08													
Ala	0.21	0.24	0.25	0.30	0.53												
Val	- 0.13	0.01	0.20	-0.38	0.60 *	0.28											
Met	0.23	- 0.02	0.46	-0.08	0.10	0.36	0.50										
Ile	- 0.05	- 0.03	0.67 *	-0.15	0.50	0.68 *	0.85 **	0.68 *									
Leu	- 0.23	- 0.15	0.57	-0.15	0.66 *	0.57	0.80 **	0.31	0.82 **								
Tyr	- 0.13	0.05	0.40	0.08	0.02	- 0.02	0.24	0.72 **	0.29	- 0.09							
Phe	0.37	- 0.06	0.31	0.17	0.36	0.68 *	0.60 *	0.73 **	0.82 **	0.65 *	0.37						
Orn	0.21	- 0.49	0.65	0.27	0.38	0.46	0.33	0.70	0.67	0.41	0.67	0.75					
Lys	0.42	- 0.45	0.07	0.32	- 0.58	0.03	- 0.54	-0.32	- 0.06	- 0.31	- 0.16	- 0.17	- 0.35				
His	0.26	- 0.34	0.67	0.36	0.04	0.22	- 0.12	0.72	0.27	- 0.06	0.88 *	0.45	0.79 *	- 0.44			
Taur	- 0.13	0.14	0.55	0.07	0.40	0.53	0.12	0.21	0.71 *	0.69 *	0.13	0.41	0.74	0.20	0.52		
Poids	0.03	0.03	0.26	-0.31	0.15	0.25	0.23	0.16	0.51	0.49	0.19	0.34	0.35	- 0.39	0.33	0.48	
hct	- 0.13	- 0.77	0.42	-0.01	0.30	0.01	0.04	-0.09	0.20	0.44	- 0.12	0.00	0.08	0.59	- 0.36	0.47	- 0.33

Les corrélations ont été établies sur 12 valeurs, sauf pour la méthionine et les amino - acides basiques (8 valeurs)

TABLEAU XVI

Coefficients de corrélation entre les acides aminés des hématies du Rat normal Les coefficients significativement différents de zéro sont marqués d'un astérisque ($p < 0.05$) ou de deux astérisques ($p < 0.01$)

	Thr	Ser	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Taur	Poids
Ser	0,30											
Gly	0,72	0,28										
Ala	0,14	0,69	0,64									
Val	- 0,06	0,85 *	0,18	0,79 *								
Met	0,29	0,50	0,59	0,60	0,51							
Ile	0,35	0,85 *	0,49	0,82 *	0,80 *	0,28						
Leu	0,47	0,57 **	0,70	0,90 **	0,80 *	0,55	0,21 **					
Tyr	- 0,17	0,22	0,29	0,72	0,63	0,89 *	0,51	0,63				
Phe	0,48		0,76 *	0,76 *	0,64	0,85 *	0,68	0,86 *	0,68			
Taur	0,34	0,59	0,71 *	0,78 *	0,57	0,87 *	0,63	0,83 *	0,83 *	0,92 **		
Poids	0,06	0,27	- 0,06	- 0,05	0,06	0,46	0,17	0,12	0,25	0,40	0,20	
hct	- 0,71 *	0,15	- 0,45	- 0,09	0,39	0,00	- 0,23	- 0,17	0,16	- 0,13	- 0,13	- 0,19

Les corrélations ont été établies sur 7 valeurs, sauf pour la thréonine, la glycine, l'alanine et la valine (8 valeurs)

TABLEAU XVII

Corrélations entre les acides aminés du sang du Rat hypercapnique - Les coefficients significativement différents de zéro sont marqués d'un astérisque ($p < 0,05$) ou de deux astérisques ($p < 0,01$)

	Glu	Gln	Thr	Ser	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Orn	Lys	His	Arg	Taur	Poids
Gln	0.13																	
Thr	- 0.05	0.70																
Ser	0.01	0.66	0.57															
Gly	0.47	0.82 *	0.40	0.36														
Ala	0.50	0.86 *	0.63	0.52	0.80 *													
Val	0.69	0.07	0.11	- 0.15	- 0.09	0.18												
Met	- 0.22	0.22	0.06	0.30	- 0.09	- 0.18	0.40											
Ile	0.48	0.22	0.40	0.39	- 0.16	0.23	0.88 **	0.34										
Leu	0.57	0.06	0.07	0.15	- 0.20	0.07	0.95 **	0.45	0.92 **									
Tyr	0.53	0.55	0.28	- 0.54	0.48	0.46	0.65	0.63	0.55	0.59								
Phe	0.16	0.46	0.70	0.74	0.33	0.39	0.50	0.49	0.52	0.36	0.70							
Orn	0.37	- 0.43	- 0.73	- 0.42	0.10	- 0.12	- 0.02	- 0.30	- 0.42	- 0.24	- 0.03	- 0.20						
Lys	0.60	0.69	0.47	0.57	0.59	0.84 *	0.42	0.02	0.32	0.24	0.63	0.54	0.20					
His			- 0.03	- 0.30	- 0.35	0.23	0.54	- 0.41	0.53	0.52	- 0.16	- 0.19	0.04	0.31				
Arg	- 0.47	0.24	- 0.13	- 0.12	- 0.31	- 0.14	0.02	0.50	0.10	0.21	- 0.01	- 0.28	- 0.80 *	- 0.24	0.28			
Taur	0.39	0.41	0.61	0.77 *	0.51	0.48	- 0.27	- 0.41	0.06	- 0.37	0.15	0.32	- 0.24	0.34		- 0.62		
Poids	- 0.12	- 0.03	0.44	0.17	- 0.09	- 0.16	0.10	0.11	0.38	0.25	0.01	0.30	- 0.73	- 0.55	- 0.26	- 0.15	0.43	
hct	- 0.15	0.22	- 0.05	- 0.01	- 0.08	0.27	- 0.31	- 0.41	- 0.21	- 0.29	- 0.39	- 0.50	- 0.02	0.32	0.40	0.37	- 0.10	- 0.63

Les corrélations ont été établies sur 8 valeurs, sauf pour les amino-acides basiques (7 valeurs)

TABLEAU XVIII

Corrélations entre les acides aminés du plasma du Rat hypercapnique - Les coefficients significativement différents de zéro sont marqués d'un astérisque ($p < 0.05$) ou de deux astérisques ($p < 0.01$)

	Glu	Gln	Thr	Ser	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Taur	Poids
Gln	0,15															
Thr	- 0,10	0,32														
Ser	- 0,29	0,22	0,94**													
Gly	0,21	0,56	0,71*	0,66												
Ala	0,78*	0,16	0,24	0,12	0,63											
Val	0,81*	0,21	-0,09	- 0,34	0,22	0,82*										
Met	0,36	0,33	0,13	- 0,04	0,76	0,56	0,57									
Ile	- 0,19	0,18	- 0,32	- 0,25	0,12	0,20	0,36	0,56								
Leu	- 0,55	0,21	- 0,54	- 0,26	- 0,17	0,22	- 0,12	0,00	0,66							
Tyr	0,08	0,04	0,12	0,03	0,60	0,53	0,34	0,92**	0,60	0,08						
Phe	0,09	- 0,08	- 0,14	- 0,23	0,31	0,52	0,55	0,76*	0,81*	0,37	0,89**					
Lys		0,61	0,46	0,45	- 0,30	- 0,68			- 0,63	0,15			0,54			
His		0,08	- 0,91*	- 0,61		0,86*			0,63	0,62			0,84*	- 0,38		
Taur	0,23	0,09	0,31	0,28	0,27	0,58	0,49	- 0,10	- 0,03	0,20	0,04	0,18				
Poids	0,42	0,45	0,33	0,28	0,75	0,51	0,54	0,48	0,08	- 0,01	0,20	0,07	0,01	0,30	0,10	
hct	- 0,46	0,20	0,27	0,38	0,04	- 0,36		- 0,21	- 0,12	- 0,21	- 0,13	- 0,39	0,41	- 0,36	- 0,50	- 0,30

Les corrélations ont été établies sur 9 valeurs, sauf pour la lysine et l'histidine (6 valeurs) et entre la thréonine et la sérine (10 valeurs)

TABLEAU XIX

Corrélations entre les acides aminés des hématies
du Rat hypercapnique.

Les coefficients significativement différents de zéro ($p < 0.01$)
sont marqués de deux astérisques.

	Thr	Ser	Gly	Ala	Ile	Leu	Poids
Ser	- 0.27						
Gly	- 0.05	0.35					
Ala	- 0.01	0.11	0.93**				
Ile	- 0.15	0.44	0.40	0.09			
Leu	- 0.46	0.52	0.43	0.16	0.93**		
Poids	0.20	- 0.79	- 0.74	- 0.61	- 0.21	- 0.30	
Hct	0.20	0.67	0.63	0.61	0.04	0.05	- 0.33

D) - L'UREMIE CHEZ LES ANIMAUX HYPERCAPNIQUES.

Comme on peut le constater dans le tableau X, le taux de l'urée plasmatique, calculé d'après les chromatogrammes, ne subit pas de modification lors de l'hypercapnie. Toutefois, vu la faible coloration de l'urée par la ninhydrine, ces déterminations par chromatographie sur colonnes sont sujettes à caution. Aussi avons nous effectué le dosage de l'urée par l'uréase, selon la méthode de CONWAY. Un séjour d'une heure dans une enceinte contenant 10 pour 100 de CO_2 n'affecte pas l'urée sanguine, et ne modifie pas sa répartition érythroplasmatique. Les variations observées sont minimales et non significatives (tableau XX).

TABLEAU XX

Influence de l'hypercapnie ($\text{F}_{\text{ICO}_2} = 0,10$; $\text{F}_{\text{IO}_2} = 0,21$) sur le taux de l'urée dans le sang, le plasma et les hématies du Rat à jeûn

	Poids moyen (g)	Hémo- crite	Urée (mg/100 ml)		
			du sang	du plasma	des hématies
Témoins...	294	51,33	$41,09 \pm 1,29$ (10)	$42,15 \pm 0,94$ (9)	$42,17 \pm 2,66$ (8)
CO_2 : 1 h.	296	51,45	$40,78 \pm 1,37$ (10)	$42,92 \pm 1,21$ (12)	$38,42 \pm 2,02$ (10)
Valeur de t.			0,162	0,474	1,169
Probabilité de l'hypo- thèse nulle			> 0,80	> 0,60	> 0,20

Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.

E) - LE TAUX DU GLUTATHION CHEZ LES ANIMAUX HYPERCAPNIQUES

Nous avons noté que les variations de l'aspartate du sang étaient difficiles à interpréter, en raison de la présence dans la même zone du chromatogramme de glutathion réduit en quantité importante. Nous avons déterminé par la méthode de KAPLAN et DREYFUS le glutathion réduit du sang total, et nous avons recherché sa présence éventuelle dans le plasma, où ce composé n'existe pas à l'état normal.

Il apparaît que le taux du glutathion réduit du sang est diminué chez les rats ayant séjourné pendant 1 heure dans une enceinte contenant 10 pour 100 de CO₂ (tableau XXI). La diminution, calculée pour les hématies, atteint 10 pour 100, et elle est significative. On ne trouve pas de glutathion réduit dans le plasma, ni chez les rats normaux, ni chez les rats hypercapniques.

TABLEAU XXI

Influence de l'hypercapnie sur le taux du glutathion réduit dans le sang, le plasma et les hématies du Rat à jeûn.

	Poids moyen	Hémo- crite	Glutathion réduit		
			du sang	du plasma	des hématies
	g		mg/100 ml	mg/100 ml	mg/100 ml
Témoins.....	338	50,20 (10)	47,87 ± 1,05(10)	0(6)	101,02 ± 1,92(10)
CO ₂ — 1 h.....	332	49,90 (10)	45,33 ± 1,52*(10)	0(6)	91,24 ± 2,08* (10)
Valeur de <i>t</i>			2,405		3,461
Probabilité de l'hypo- thèse nulle.....			< 0,05		< 0,01
Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard. Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux Les valeurs significatives sont accompagnées d'un astérisque.					

CHAPITRE I V

ETUDE DES VARIATIONS DU TAUX DES COMPOSES α -AMINES LIBRES TOTAUX
ET DE CERTAINS AMINO-ACIDES LIBRES DANS LES TISSUS, SOUS L'EFFET DU CO₂

Les variations des acides aminés du sang sous l'influence du CO₂ ne sauraient s'expliquer par un simple phénomène d'hémoconcentration, puisqu'elles se manifestent en hausse pour certaines molécules, en baisse pour quelques autres, cependant que la plupart sont inchangées. L'on peut se demander dans quelle mesure ces variations peuvent avoir pour origine une libération des acides aminés au niveau de certains tissus. Nous avons étudié dans ce but la composition du foie, du muscle gastrocnémien et du rein.

A - LES COMPOSES α -AMINES LIBRES TOTAUX DU FOIE, DU
MUSCLE ET DU REIN CHEZ LE RAT HYPERCAPNIQUE.

Il apparaît d'après le tableau XXII que les composés α -aminés libres totaux dosés par la ninhydrine ne subissent aucun changement significatif dans le foie, le muscle ou le rein de rats ayant séjourné pendant 1 heure dans une atmosphère contenant 10 pour 100 de CO₂. Cependant chez ces animaux, la composante amino-acide du sang est significativement majorée, comme dans les expériences que nous avons précédemment rapportées (pp. 47 et 55). La hausse affecte également les hématies (+ 13%) et le plasma (+11%).

TABLEAU XXII

Influence de l'hypercapnie ($F_{I_{CO_2}} = 0,10$; durée 1 heure)
sur les composés α -aminés libres totaux des tissus chez
le rat à jeûn

	Azote α -aminé		Ecart-réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle
	Normaux	CO ₂	
			t p
Foie	94,19 $\pm$ 2,61 (8)	93,01 $\pm$ 12,32 (9)	0,22 (> 0,80)
Muscle	65,95 $\pm$ 12,29 (6)	72,20 $\pm$ 9,11 (6)	0,41 (> 0,60)
Rein	118,72 $\pm$ 8,95 (8)	107,16 $\pm$ 11,62 (9)	0,77 (> 0,40)
Sang	8,08 $\pm$ 0,17 (6)	9,27 $\pm$ 0,39 (8) *	3,30 (< 0,01)
Plasma	6,23 $\pm$ 0,44 (8)	6,97 $\pm$ 0,40 (8)	1,25 (> 0,20)
Hématies	10,29 $\pm$ 0,86 (6)	11,68 $\pm$ 0,68 (8)	1,49 (> 0,10)

Les résultats sont exprimés en mg d'azote aminé pour 100 g de tissu frais, ou pour 100 ml de sang, de plasma ou d'hématies .
Le nombre des déterminations figure entre parenthèses. Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{X} \pm S_M$). Seule la composante amino-acide libre du sang est significativement modifiée par l'hypercapnie.

	FOIE		MUSCLE		REIN	
	Normaux	CO ₂	Normaux	CO ₂	Normaux	CO ₂
Nombre d'expériences	(4)	(3)	(5)	(3)	(3)	(3)
Asp	295,62 ± 22,81	304,44 ± 54,00	30,09 ± 8,51	49,81 ± 7,98	112,65 ± 4,33	107,99 ± 9,29
Thr	61,69 ± 4,39	110,52 ± 25,98 *	56,61 ± 7,09	65,73 ± 5,40	62,53 ± 7,68	55,32 ± 6,20
Ser	66,29 ± 6,73	214,11 ± 88,12 *	57,50 ± 4,45	66,49 ± 13,12	52,84 ± 5,68	71,64 ± 1,50 *
Glu	209,24 ± 5,73	200,64 ± 30,37	51,09 ± 8,69	39,62 ± 2,32 *	589,60 ± 33,35	411,37 ± 48,48 *
Gln	842,77 ± 57,53	685,25 ± 150,12	269,61 ± 24,03	259,13 ± 20,95	113,52 ± 18,14	95,80 ± 8,12
Gly	282,22 ± 19,04	263,49 ± 2,33	311,01 ± 60,97	320,06 ± 19,56	302,19 ± 12,68	315,99 ± 19,00
Ala	331,55 ± 50,12	199,78 ± 69,77	324,28 ± 22,70	362,90 ± 37,12	81,20 ± 13,14	71,12 ± 1,09
Val	27,91 ± 4,21	31,90 ± 11,55	23,02 ± 2,01	25,35 ± 9,69	31,24 ± 1,56	33,09 ± 4,80
Met	<10	<10	<10	<10	11,57 ± 0,54	13,93 ± 1,61
Ile	20,53 ± 1,40	17,52 ± 4,57	14,10 ± 1,07	16,93 ± 4,04	24,29 ± 1,87	22,36 ± 0,40
Leu	38,23 ± 5,57	40,05 ± 7,74	22,06 ± 1,85	28,11 ± 8,26	31,41 ± 2,87	29,89 ± 1,65
Tyr	25,31 ± 5,49	25,29 ± 6,24	14,14 ± 3,10	16,28 ± 2,41	21,19 ± 2,07	18,14 ± 0,63
Phe	33,47 ± 7,90	30,54 ± 7,63	8,69 ± 0,59	18,88 ± 6,30	32,00 ± 7,26	35,50 ± 9,06
Orn	56,26 ± 19,28	94,50 ± 5,49	5,97 ± 0,44	15,88 ± 4,31	13,98 ± 2,02	13,28 ± 2,77
Lys	72,01 ± 8,47	122,93 ± 16,17 *	72,06 ± 7,88	66,97 ± 10,00	45,86 ± 4,03	43,72 ± 7,29
His	72,44 ± 8,91	68,18 ± 6,75	21,60 ± 0,62	28,56 ± 4,88	33,29 ± 0,95	34,65 ± 4,81
Arg	traces	traces	24,51 ± 3,75	27,82 ± 7,63	14,61 ± 5,01	15,02 ± 3,05
Taur	1151,80 ± 203,77	971,11 ± 246,81	1572,89 ± 210,01	1615,77 ± 359,48	971,91 ± 60,30	1130,39 ± 148,80
Ans			440,17 ± 62,96	467,65 ± 23,39		
Carn			139,84 ± 22,68	116,00 ± 25,38		
Glucosamine					92,76 ± 1,27	57,40 ± 5,41 *

Les différences significatives sont désignées par un astérisque.

T A B L E A U X X I I I

B - DETERMINATION QUANTITATIVE PAR CHROMATOGRAPHIE
SUR COLONNE DE CERTAINS ACIDES α -AMINES DANS LE
FOIE, LE MUSCLE ET LE REIN, CHEZ LE RAT HYPERCAP-
NIQUE .

La plupart des composés α -aminés des tissus présentent une grande variabilité, ce qui rend difficile l'interprétation statistique des résultats. Il apparaît d'après le tableau XXIII que la sérine, la thréonine et la lysine sont considérablement augmentées dans le foie. Dans le muscle, l'augmentation de la thréonine et de la sérine ainsi que de l'alanine est plus faible et non significative ; le niveau du glutamate musculaire est fortement diminué. Dans le rein, on observe une augmentation significative de la sérine, alors que le taux du glutamate et celui de la glucosamine sont diminués. Dans les tissus examinés, les variations positives ou négatives observées s'accompagnent généralement d'une augmentation de la dispersion, ce qui a pour effet de restreindre la signification statistique des résultats. On ne note aucune variation de la teneur des organes en protéines (tableau XXIV).

TABLEAU XXIV

Influence de l'hypercapnie sur les protéines totales
du plasma, du foie, du muscle et du rein chez le Rat
(en mg de protéines par g de tissu frais).

	Normaux	CO ₂	Ecart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle
Plasma	100,72 $\pm$ 4,53	90,52 $\pm$ 9,41	0,97 ($> 0,30$)
Foie	246,47 $\pm$ 6,06	250,97 $\pm$ 4,57	0,62 ($> 0,50$)
Muscle	193,46 $\pm$ 27,50	194,72 $\pm$ 24,61	1,00 ($> 0,30$)
Rein	170,16 $\pm$ 8,33	161,32 $\pm$ 2,84	0,03 ($> 0,90$)

CHAPITRE V

EFFETS D'UNE INJECTION DE TARTRATE DE SODIUM SUR LES VARIATIONS SPECIFIQUES DES AMINO-ACIDES INDUITES PAR LE CO₂ DANS LE SANG DU RAT

Pour déterminer la part qui revient à l'acidose dans les modifications subies par les acides aminés, nous avons procédé à des expériences d'hypercapnie ($\text{FI}_{\text{CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure) chez des animaux ayant reçu juste avant le début de l'expérience une injection intrapéritonéale de 0,5 ml de solution de tartrate de sodium.

Chez ces animaux, le CO₂ n'abaisse plus le pH du sang, qui est égal à 7,45 comme chez les rats normaux. On n'observe pas de modification appréciable du pH sanguin (7,46) chez les rats auxquels on administre le tartrate sans les soumettre à l'hypercapnie : ces animaux sont donc en alcalose légère compensée.

Les résultats des déterminations chromatographiques sur colonne sont rassemblés dans les tableaux XXV à XXVII et la discussion statistique est rapportée en annexe (tableaux XLII à XLIV).

Alors que l'hypercapnie entraîne dans le plasma une baisse du glutamate ainsi que de la tyrosine et de la phénylalanine, une hausse plus ou moins importante de l'alanine, de la sérine, de la lysine, de la glutamine et de la thréonine plasmatiques, elle ne provoque plus chez le rat traité par le tartrate qu'une hausse de l'alanine, d'ailleurs importante (+ 25% ; $p < 0,05$). On observe en outre une augmentation de la phénylalanine intraglobulaire (+ 106% ; $p < 0,01$). La chute du niveau intraglobulaire de la glycine et de la thréonine ne se manifeste plus.

Quant à l'animal traité par le tartrate seulement, il présente une diminution significative de l'alanine, de la thréonine, de la sérine et de la lysine du sang et du plasma.

TABLEAU XXV

Influence de l'hypercapnie sur les composés α -aminés du sang chez le Rat traité par le tartrate de sodium (μ moles/100 ml)

	Normaux	Tartrate	Tartrate + CO ₂	Témoins Na Cl
Nombre d'expériences	(18)	(4)	(3)	(2)
Glu + GSSG	73, 14	71, 84 $\pm$ 3, 14(4)	124, 82 $\pm$ 15, 15(3) ^{*+}	94, 52(2)
Gl	77, 29	74, 40 $\pm$ 8, 12(4)	85, 74 $\pm$ 1, 43(3)	123, 28(2)
Thr	25, 42	20, 14 $\pm$ 2, 66(4) [*]	26, 28 $\pm$ 4, 48(3)	33, 97(2)
Ser	29, 10	23, 41 $\pm$ 1, 37(4) [*]	23, 77 $\pm$ 0, 42(3)	35, 75(2)
Gly	38, 03	31, 24 $\pm$ 3, 34(4)	38, 43 $\pm$ 4, 44(3)	37, 63(2)
Ala	35, 26	28, 86 $\pm$ 4, 97(3)	48, 39 $\pm$ 2, 53(3) ^{*+}	40, 98(2)
Val	16, 11	15, 43 $\pm$ 2, 24(3)	16, 51 $\pm$ 1, 68(3)	19, 19(2)
Met	5, 13	4, 22 $\pm$ 0, 19(3)	4, 30 $\pm$ 0, 61(3)	2, 69(2)
Ile	10, 81	8, 65 $\pm$ 0, 58(3)	9, 61 $\pm$ 1, 00(3)	8, 91(2)
Leu	16, 77	12, 58 $\pm$ 1, 56(3)	16, 18 $\pm$ 0, 23(3)	14, 39(2)
Tyr	6, 37	5, 23 $\pm$ 0, 18(3) [*]	6, 56 $\pm$ 0, 57(3)	8, 51(2)
Phe	7, 18	6, 17 $\pm$ 0, 29(3)	8, 66 $\pm$ 0, 97(3) ^{*+}	6, 05(2)
Orn	4, 31	3, 48 $\pm$ 0, 40(4)	3, 52 (2)	4, 27(2)
Lys	56, 80	47, 99 $\pm$ 2, 98(4) [*]	45, 90 (2)	50, 62(2)
His	11, 59	12, 42 $\pm$ 1, 01(4)	11, 19 (2)	12, 92(2)
Arg	25, 49	24, 08 $\pm$ 0, 77(4)	29, 21 (2)	32, 43(2)
Taur	49, 37	44, 36 $\pm$ 3, 89(4)	51, 08 $\pm$ 4, 14(3)	55, 43(2)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{x} \pm s_M$)

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses

Les résultats relatifs aux animaux normaux sont extraits du tableau XII

* différence significative ($p < 0,05$) entre animaux traités et animaux normaux

+ différence significative ($p < 0,05$) entre animaux hypercapniques.

TABLEAU XXVI

Influence de l'hypercapnie sur les composés α -aminés du plasma chez le Rat traité par le tartrate de sodium (μ moles/100 ml)

	Normaux	Tartrate	Tartrate + CO ₂	Témoins Na Cl
Nombre d'expériences	(18)	(4)	(3)	(2)
Glu	20,54	18,64 (2)	21,06 ⁺ - 5,33(3) ^{*+}	18,82(2)
Gln	84,04	67,17 (2)	85,88 ⁺ - 12,41(3)	95,90(2)
Thr	24,10	19,03 (2)	19,51 ⁺ - 1,98(3) ^{*+}	28,12(2)
Ser	31,31	23,14 (2)	27,68 ⁺ - 0,98(3) ⁺	36,00(2)
Gly	36,77	25,01 (2)	30,58 ⁺ - 3,24(3)	35,66(2)
Ala	34,71	27,06 (2)	43,57 ⁺ - 1,61(3) [*]	41,85(2)
Val	16,44	12,86 (2)	15,97 ⁺ - 1,38(3)	19,10(2)
Met	5,61	4,87 (2)	4,90 ⁺ - 0,45(3)	5,03(2)
Ile	10,78	6,87 (2)	9,21 ⁺ - 1,22(3)	10,16(2)
Leu	17,90	11,22 (2)	15,23 ⁺ - 0,98(3)	15,10(2)
Tyr	7,74	6,88 (2)	5,58 ⁺ - 0,46(3)	6,80(2)
Phe	7,89	8,15 (2)	6,22 ⁺ - 0,56(3)	6,88(2)
Orn	4,38	5,40 ⁺ - 0,97(3)	2,88 (2)	3,05(2)
Lys	45,48	41,27 ⁺ - 5,42(3)	41,99 (2)	41,28(2)
His	11,99	13,21 ⁺ - 1,70(3)	12,63 (2)	10,94(2)
Arg	14,63	11,38 ⁺ - 2,42(3)	14,14 (2)	13,04(2)
Taur	38,60	35,23 (2)	37,22 ⁺ - 5,27(3)	41,96(2)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{x} \pm s_M$)

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses

Les résultats relatifs aux animaux normaux sont extraits du tableau XI

* différence significative ($p < 0,05$) entre animaux traités et animaux normaux

+ différence significative ($p < 0,05$) entre animaux hypercapniques.

TABLEAU XXVII

Influence de l'hypercapnie sur les composés α -aminés des hématies chez le Rat traité par le tartrate de sodium (μ moles/100 ml).

	Normaux	Tartrate	Tartrate + CO ₂	Témoins Na Cl
Nombre d'expériences	(18)	(4)	(3)	(2)
Thr	29,07	29,52 (2)	33,22 ⁺ 10,04 (3)	42,90(2)
Ser	25,50	27,59 (2)	19,47 (2)	35,43(2)
Gly	42,60	48,48 (2)	46,84 ⁺ 8,43 (3) ⁺	43,30(2)
Ala	32,70	43,44 (2)	53,83 ⁺ 4,07 (3) ⁺⁺	44,52(2)
Val	15,31	18,74 (2)	17,14 ⁺ 2,07 (3)	21,32(2)
Met	4,99	3,62 (2)	3,66 ⁺ 0,75 (3)	1,75(2)
Ile	10,02	11,48 (2)	10,10 ⁺ 0,98 (3)	7,62(2)
Leu	14,73	16,37 (2)	17,28 ⁺ 0,69 (3)	13,66(2)
Tyr	6,39	4,75 (2)	7,50 ⁺ 1,58 (3)	10,32(2)
Phe	5,39	5,96 (2)	11,11 ⁺ 2,14 (3) ⁺⁺	5,19(2)
Orn	3,64	0,92 ⁺ 0,14 (3)	4,28 (2)	5,53(2)
Lys	62,22	58,11 ⁺ 5,24 (3)	50,89 (2)	60,48(2)
His	11,97	10,27 ⁺ 2,44 (3)	9,66 (2)	15,01(2)
Arg	39,20	38,82 ⁺ 4,38 (3)	46,65 (2)	52,61(2)
Taur	56,03	65,49 (2)	66,26 ⁺ 4,28 (3) ⁺	69,91(2)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{x} \pm s_M$)

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses

Les résultats relatifs aux animaux normaux sont extraits du tableau XIII

++ différence significative ($p < 0,05$) entre les animaux traités et les animaux normaux

+ différence significative ($p < 0,05$) entre les animaux hypercapniques.

CHAPITRE VI

EFFETS DE LA MÉTYRAPONE SUR LES VARIATIONS SPECIFIQUES DES
AMINO-ACIDES INDUITES PAR LE CO₂ DANS LE SANG DU RAT

Pour déterminer l'intervention possible des hormones surrénaliennes dans le contrôle des variations induites par l'hypercapnie, nous avons utilisé la métyrapone (Métopirone Ciba), qui inhibe la réaction de 11-hydroxylation conduisant à l'aldostérone et à la corticostérone.

Les résultats obtenus lors de ces expériences figurent dans les tableaux XXVIII à XXX et l'on trouvera en annexe la discussion statistique des différences dans les tableaux XLV à XLVII. On constate qu'en présence de métyrapone, bien des changements induits par le CO₂ chez l'animal normal n'ont pas lieu. C'est ainsi que l'on n'observe plus la hausse de la sérine et de la glutamine plasmatiques, ni la baisse de la phénylalanine. D'autres modifications dues au CO₂ se trouvent atténuées par la métyrapone : tel est le cas de l'abaissement du glutamate et de la tyrosine plasmatique, ainsi que de la glycine intraglobulaire. Il subsiste une augmentation de la taurine, de la lysine (non significative) et surtout de l'alanine plasmatique qui est très fortement augmentée (+ 81% ; $p < 0,01$).

Un fait nouveau caractérise les rats hypercapniques traités par la métyrapone par rapport aux rats normaux, c'est la réduction du niveau sanguin de l'isoleucine (-14% ; $p < 0,05$) et dans une moindre mesure, de la valine et de la leucine. Ceci tient essentiellement à une diminution importante de ces acides aminés dans les hématies, qui atteint 51% ($p < 0,05$) dans le cas de la valine, alors que dans le plasma l'on n'observe pas de tels changements ; il y a même une légère augmentation de la valine plasmatique (+ 13% non significative).

Les figures 10 à 14 permettent d'objectiver les conséquences d'un traitement par la métyrapone ou par le tartrate de sodium chez le rat hypercapnique.

TABLEAU XXVIII

Influence de l'hypercapnie sur les composés α -aminés du sang du Rat traité par la métyrapone (résultats exprimés en μ moles par 100 ml de sang ..

	Normaux	CO ₂	Métyrapone	Métyrapone + CO ₂
Nombre d'expériences	(18)	(13)	(7)	(5)
Glu + GSSG	73,13	63,97	85,94 ⁺ 5,96(6)	97,37 ⁺ 20,50(4)
Gln	77,29	58,85	60,21 ⁺ 6,22(6)	71,35 ⁺ 13,10(4)
Thr	25,42	22,91	22,79 ⁺ 2,04(6)	23,47 ⁺ 1,87(4)
Ser	29,10	30,53	26,96 ⁺ 2,71(6)	27,67 ⁺ 1,68(4)
Gly	38,03	33,60	35,75 ⁺ 2,79(6)	35,56 ⁺ 3,18(4)
Ala	35,26	39,88	28,96 ⁺ 2,38(6) [*]	50,19 ⁺ 0,85(4) ^{**+}
Val	16,11	16,05	13,89 ⁺ 1,66(6)	13,47 ⁺ 0,60(4)
Met	5,13	4,61	4,83 ⁺ 0,30(5)	4,77 ⁺ 0,74(4)
Ile	10,81	9,72	7,89 ⁺ 1,00(6) [*]	8,20 ⁺ 1,03(4) [*]
Leu	16,77	15,37	13,29 ⁺ 1,33(6) [*]	13,80 ⁺ 1,79(4)
Tyr	6,37	6,50	6,29 ⁺ 0,15(6)	4,87 ⁺ 0,28(4) ^{**+}
Phe	7,18	6,24	6,42 ⁺ 0,33(6)	6,15 ⁺ 0,74(4)
Orn	4,30	4,75	4,19 ⁺ 0,56(6)	4,04 ⁺ 0,30(4)
Lys	56,80	58,10	46,62 ⁺ 3,66(6) [*]	51,24 ⁺ 3,01(4)
His	11,59	11,27	10,59 ⁺ 0,66(6)	11,13 ⁺ 0,90(3)
Arg	25,49	25,56	20,11 ⁺ 1,69(6) [*]	23,66 ⁺ 3,84(4)
Taur	49,37	44,69	49,91 ⁺ 2,10(5)	46,29 ⁺ 4,85(4)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{x} \pm s_M$)

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses

Les moyennes relatives aux animaux normaux et aux animaux traités par le CO₂ sont extraites du tableau XII

L'astérisque désigne les valeurs significativement différentes ($p < 0,05$) entre les animaux traités et les animaux normaux. Le signe (+) désigne les valeurs significativement différentes ($p < 0,05$) entre les animaux hypercapniques.

TABLEAU XXIX

Influence de l'hypercapnie sur les composés α -aminés du plasma du Rat traité par la métyrapone (résultats exprimés en μ moles par 100 ml de plasma).

	Normaux	CO ₂	Métyrapone	Métyrapone + CO ₂
Nombre d'expériences	(18)	(13)	(7)	(5)
Glu	20,54	13,03	17,06 $\pm$ 1,29 (3)	17,65 $\pm$ 3,31 (3)
Gln	84,04	89,85	75,85 $\pm$ 10,44 (4)	81,25 $\pm$ 8,13 (3)
Thr	24,10	25,20	20,52 $\pm$ 2,63 (4)	26,00 $\pm$ 3,20 (3)
Ser	31,31	38,67	24,44 $\pm$ 2,65 (4)*	30,32 $\pm$ 1,63 (3)
Gly	36,77	38,13	32,02 $\pm$ 2,44 (4)	34,63 $\pm$ 4,10 (3)
Ala	34,71	40,82	29,80 $\pm$ 2,79 (3)	62,42 $\pm$ 4,69 (3)**+
Val	16,44	17,24	18,52 $\pm$ 1,55 (3)	22,06 $\pm$ 4,35 (3)
Met	5,61	5,61	4,32 $\pm$ 1,09 (3)	6,32 (2)
Ile	10,78	10,33	7,66 $\pm$ 2,10 (3)	10,58 $\pm$ 1,02 (3)
Leu	17,90	17,30	13,38 $\pm$ 4,06 (3)	16,50 $\pm$ 1,03 (3)
Tyr	7,74	5,72	6,43 $\pm$ 0,77 (3)	6,85 $\pm$ 0,61 (3)
Phe	7,89	6,47	7,95 $\pm$ 0,85 (3)	8,30 $\pm$ 0,65 (3) +
Orn	4,38	4,94	5,10 $\pm$ 0,30 (3)	6,92 (2)
Lys	45,48	51,17	39,51 $\pm$ 2,33 (4)	55,62 (2)
His	11,99	11,36	13,00 $\pm$ 2,45 (4)	16,07 (2)
Arg	14,63	16,77	12,79 $\pm$ 1,48 (3)	14,03 (2)
Taur	38,60	45,22	44,28 $\pm$ 3,72 (4)	52,88 $\pm$ 1,85 (3)**

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{x} \pm s_M$)

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses

Les moyennes relatives aux animaux normaux et aux animaux traités par le CO₂, sont extraites du tableau XI

L'astérisque désigne les valeurs significativement différentes ($p < 0,05$) entre les animaux traités et les animaux normaux. Le signe (+) désigne les valeurs significativement différentes ($p < 0,05$) entre les animaux hypercapniques.

TABLEAU XXX

Influence de l'hypercapnie sur les composés α -aminés des hématies du Rat traité par la métyrapone (résultats exprimés en μ moles par 100 ml d'hématies).

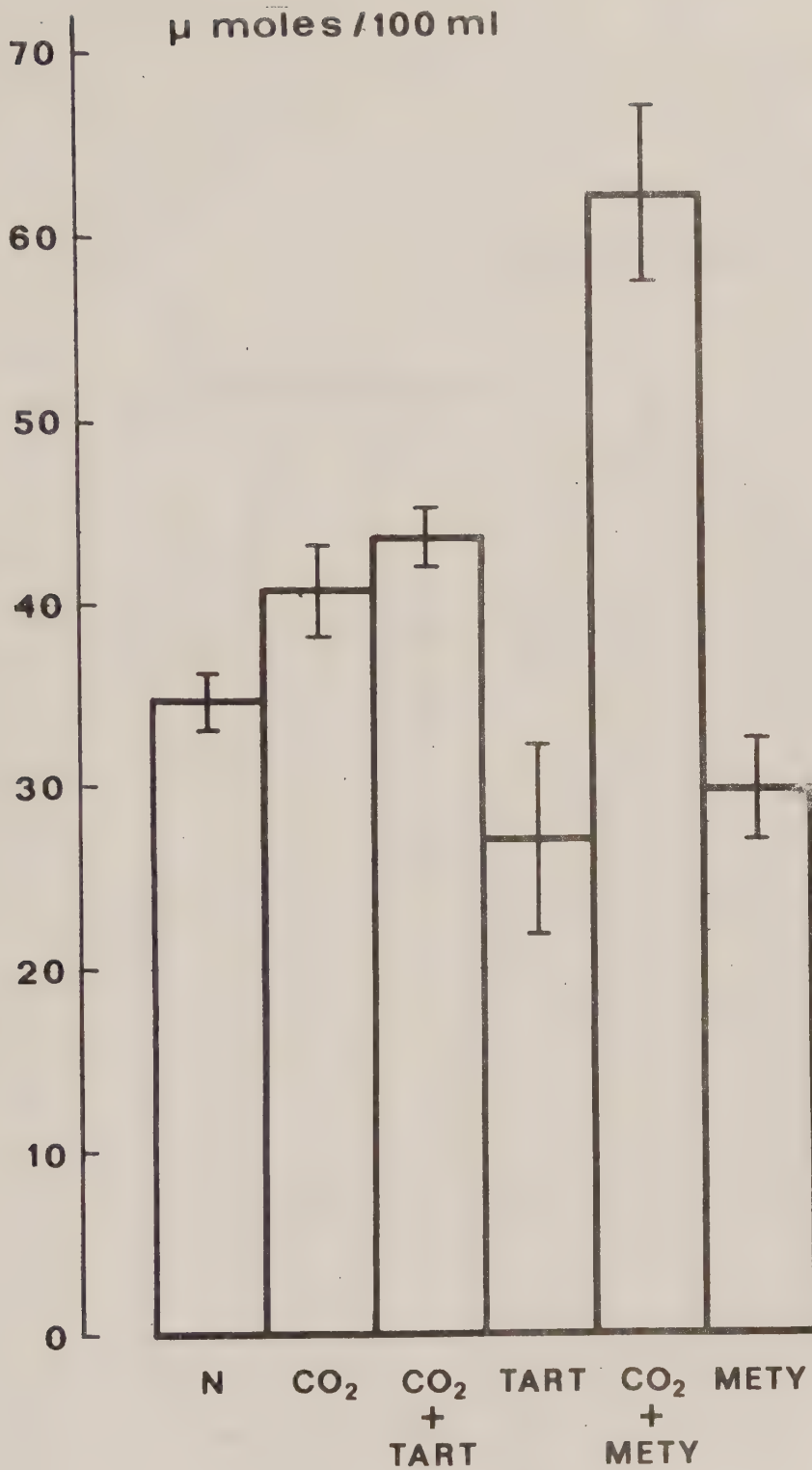
	Normaux	CO ₂	Métyrapone	Métyrapone + CO ₂
Nombre d'expériences	(18)	(13)	(7)	(5)
Thr	29,07	22,78	25,86 $\pm$ 4,87 (4)	20,53 $\pm$ 2,47 (3)
Ser	25,50	28,81	28,09 $\pm$ 6,57 (4)	21,96 $\pm$ 2,66 (3)
Gly	42,60	28,44	40,80 $\pm$ 6,94 (4)	35,70 $\pm$ 6,24 (3)
Ala	32,70	32,08	30,12 $\pm$ 3,75 (3)	36,50 $\pm$ 4,44 (3)
Val	15,31	17,17	14,67 $\pm$ 0,81 (3)	7,40 $\pm$ 1,40 (3) * $\pm$
Met	4,99	3,16	5,75 (2)	3,96 (2)
Ile	10,02	9,74	7,17 $\pm$ 1,14 (3)	6,58 $\pm$ 1,76 (3)
Leu	14,73	15,68	12,42 $\pm$ 0,98 (3)	11,69 $\pm$ 3,33 (3)
Tyr	6,39	6,14	6,24 $\pm$ 0,60 (3)	3,14 $\pm$ 0,92 (3)
Phe	5,39	5,91	5,15 $\pm$ 0,44 (3)	4,59 $\pm$ 2,74 (3)
Orn	3,64	2,37	1,95 (2)	-
Lys	62,22	66,43	67,58 $\pm$ 12,52 (3)	48,95 (2)
His	11,97	8,99	8,09 $\pm$ 0,95 (3)	-
Arg	39,20	38,39	32,70 (2)	35,24 (2)
Taur	56,03	42,11	62,33 $\pm$ 7,46 (3)	48,01 $\pm$ 10,33(3)

Les valeurs moyennes sont suivies de l'erreur standard ($\bar{x} \pm s_M$)

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses

Les moyennes relatives aux animaux normaux et aux animaux traités par le CO₂, sont extraites du tableau XIII

Seule, la variation affectant la valine des animaux hypercapniques traités par la métyrapone est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport aux animaux normaux ou hypercapniques.



ALANINE

FIGURE 10

Effet de l'hypercapnie sur l'alanine du plasma : l'augmentation de l'alanine chez le rat hypercapnique n'est pas supprimée lors de l'administration de tartrate, alors que celui-ci provoque une diminution de l'alanine chez le rat qui ne respire pas d'atmosphère hypercarbique. L'inhibition de la corticosurrénale par la métyrapone exagère la hausse de l'alanine au cours de l'hypercapnie.

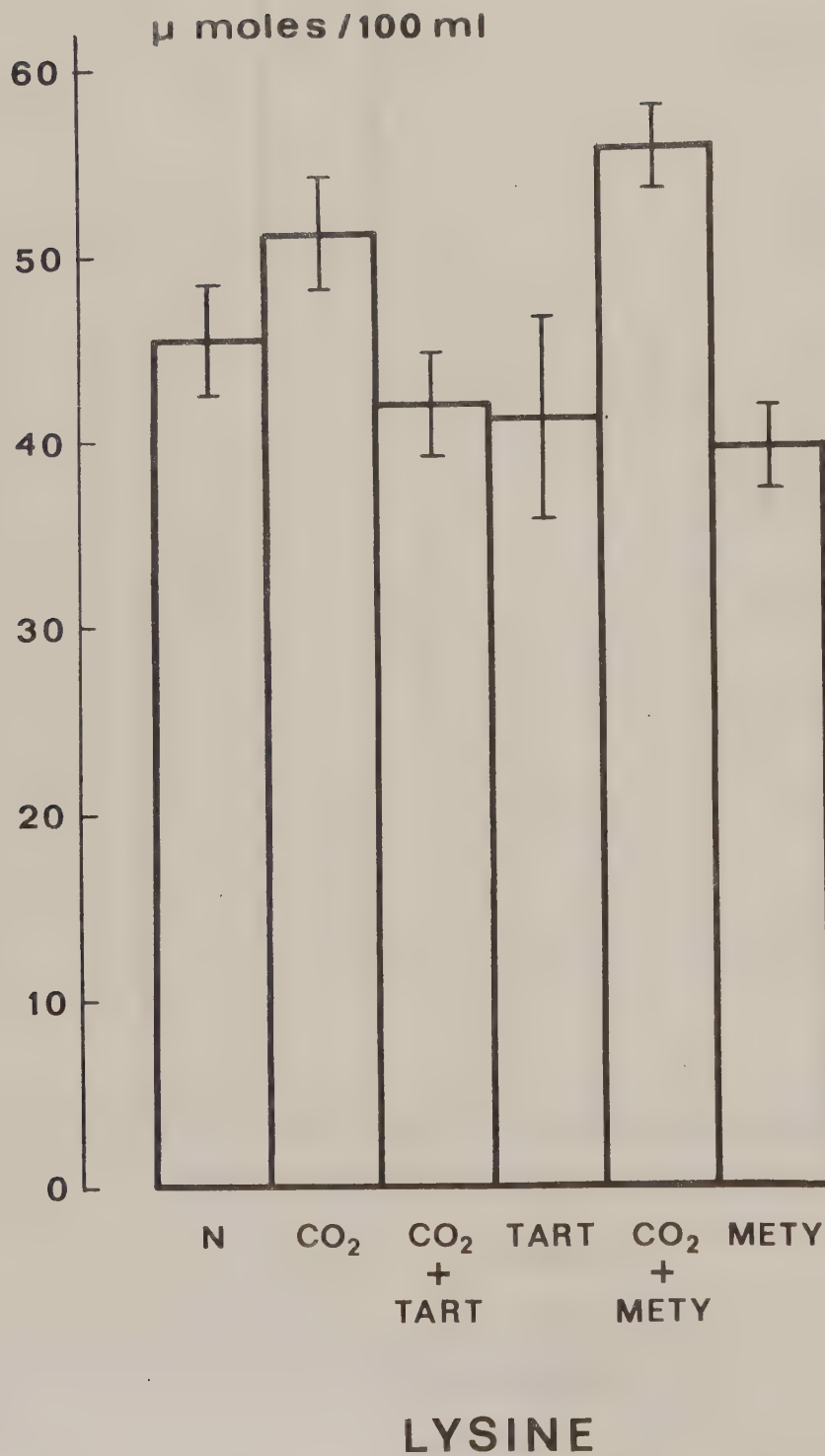
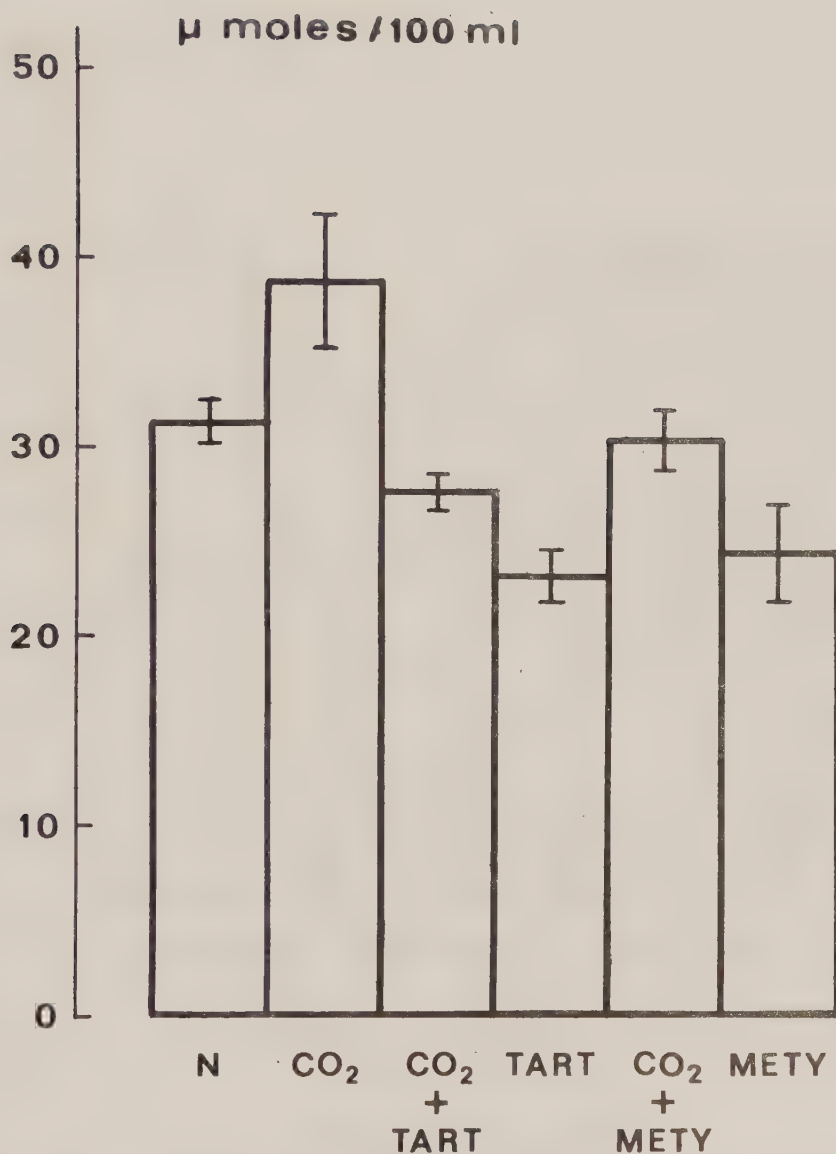


FIGURE 11

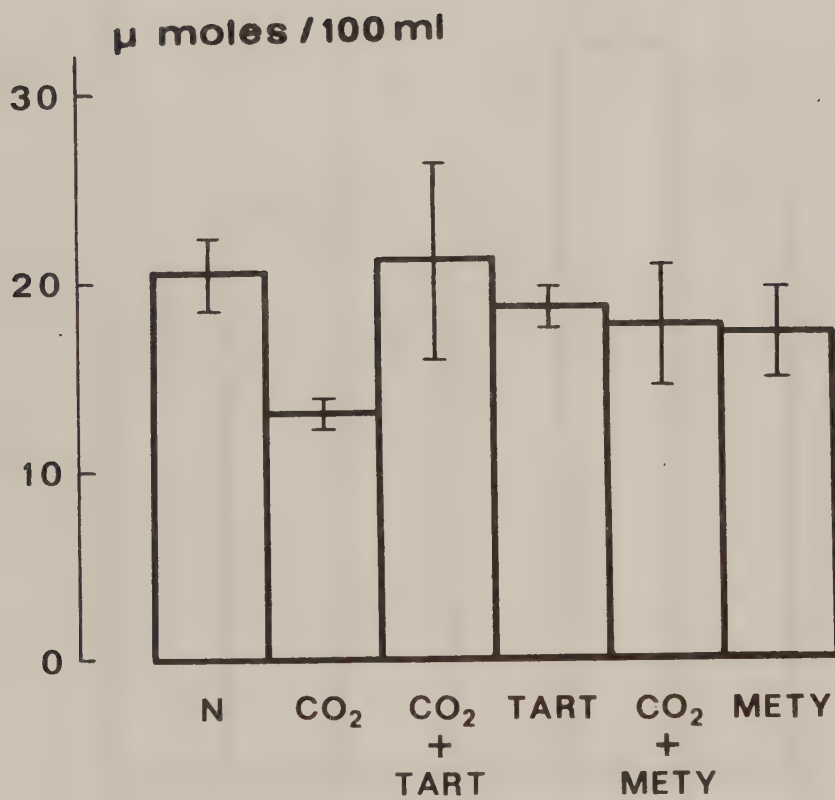
Effet de l'hypercapnie sur la lysine du plasma. L'augmentation modeste provoquée par le CO₂ est annulée par l'administration du tartrate. - Par contre, l'inhibition de la corticosurrénale par la métyrapone renforce la hausse de la lysine au cours de l'hypercapnie.



SERINE

FIGURE 12

Effet de l'hypercapnie sur la sérine du plasma. - La nette augmentation provoquée par l'hypercapnie est supprimée lorsqu'on administre du tartrate, ou lorsqu'on inhibe la corticosurrénale par la métyrapone. - Inversement, le niveau de la sérine est fortement abaissé par le tartrate ou par la métyrapone chez le rat qui ne respire pas d'atmosphère hypercarbique.



GLUTAMATE

FIGURE 13

Effet de l'hypercapnie sur le glutamate du plasma. La forte diminution du glutamate chez le rat hypercapnique ne s'observe plus lorsque l'on administre un agent alcalinisant (tartrate de sodium) ou lorsqu'on inhibe la biogenèse des μ hydroxycorticostéroïdes par la métyrapone.

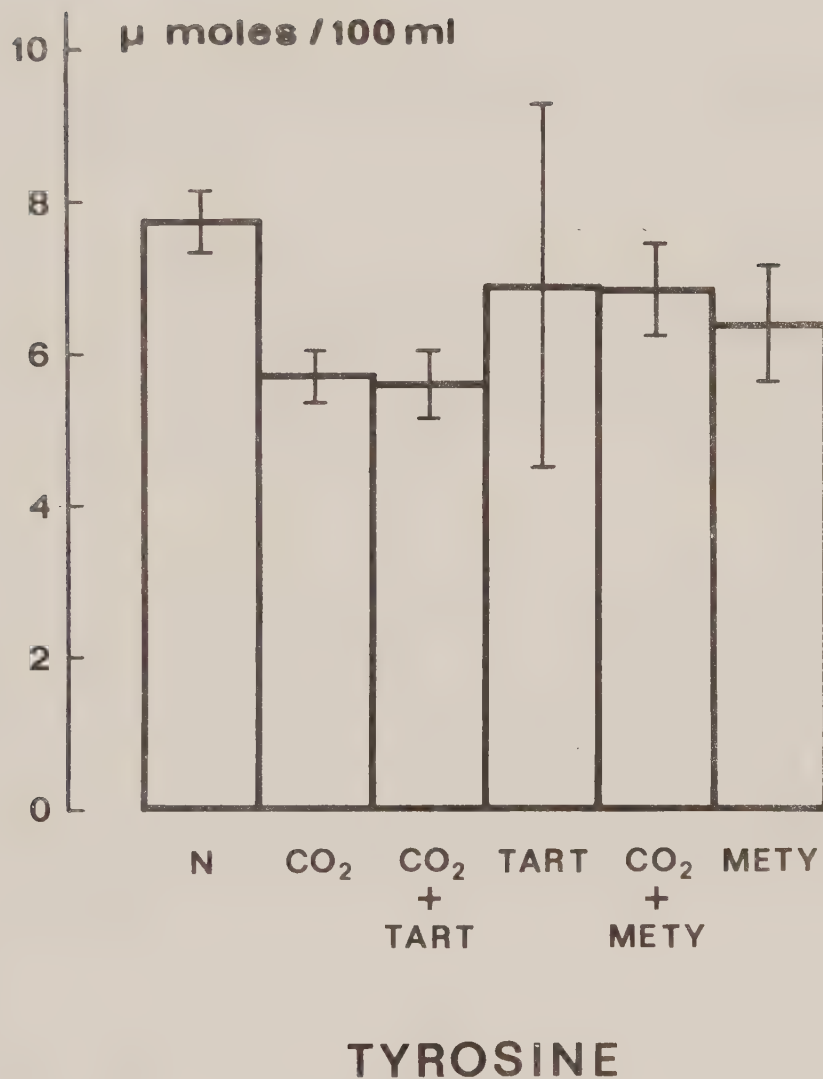


Figure 14

Effet de l'hypercapnie sur la tyrosine du plasma. On remarque que le CO₂ entraîne une forte diminution du niveau même lorsque l'acidose est supprimée par le tartrate.- L'intervention des hormones corticosurréaliennes est attestée par les expériences avec la métyrapone, qui freine l'abaissement dû au CO₂

CHAPITRE VII

CONCLUSIONS DES RECHERCHES EXPERIMENTALES

Ayant cherché à caractériser les variations subies par les composés α -aminés circulants, lors de l'hypercapnie, nous avons mis en évidence les faits suivants :

1°- Sous l'influence de l'hypercapnie, le niveau total des composés α -aminés libres du sang (réagissant avec la ninhydrine) se trouve augmenté (+ 30 %). L'étude expérimentale critique de ce phénomène montre qu'il n'est imputable, ni à un facteur hypoxémique (hypoxie par effet BOHR), ni à l'hypothermie, ni à une diminution de l'activité des animaux et qu'il est caractéristique de l'hypercapnie.

2°- L'hyperaminoacidémie totale est due à des changements qui affectent le plasma et les érythrocytes. La hausse des composés α -aminés se produit d'abord dans le plasma, et ensuite dans les hématies. L'enrichissement relatif du plasma et des hématies dépend de la répartition initiale des composés α -aminés. Si la composante amino-acide du plasma est élevée au départ, le transport des amino-acides est assuré par les hématies. L'apport alimentaire d'amino-acides ne modifie pas l'effet du CO_2 , mais le niveau final atteint par l'azote α -aminé intraérythrocytaire est comparable à celui des animaux ayant subi un jeûne préalable, malgré un niveau initial plus élevé.

3°- L'hypercapnie modérée ($\text{FI}_{\text{CO}_2} = 0,10$) suscite une augmentation de certains acides aminés dans le plasma du rat : tel est le cas de l'alanine (+ 17 %) et de la sérine (+ 21 %) dont les variations sont statistiquement significatives ; on doit noter également la hausse de la thréonine, de la lysine et de la glutamine, hausse plus modeste et moins significative. En revanche, l'acide glutamique, la tyrosine et la phénylalanine sont très fortement diminués. Les variations intraérythrocytaires sont plus restreintes et vont dans le même sens que celles du plasma, sauf pour la thréonine et la glycine dont le niveau baisse significativement dans les hématies.

On ne constate pas de variation des amino-acides à chafne

ramifiée (valine, isoleucine, leucine) ni des amino-acides participant au cycle de l'urée (ornithine, citrulline, arginine). L'urémie n'est pas modifiée.

4° - L'hypercapnie ne modifie pas sensiblement le tableau des corrélations notées chez le rat normal chez lequel on peut définir les groupes suivants :

- groupe des amino-acides à chaîne ramifiée (leucine, isoleucine, valine) en liaison partielle avec la phénylalanine, l'histidine et la méthionine, caractérisé par une corrélation étroite ($r \approx 0,90$) et par des coefficients de variation relativement élevés (C_V compris entre 20 et 40).

- groupe des molécules soufrées, dans lequel la corrélation méthionine-taurine est particulièrement remarquable ($r = 0,82$; $p < 0,01$).

- groupe constitué par l'alanine, la glycine et la sérine, à coefficients de variation homogènes et faibles (C_V voisin de 13), à corrélation assez lâche ($r \approx 0,50$).

L'hypercapnie fait apparaître en outre des corrélations nouvelles : c'est ainsi que la thréonine vient se joindre au groupe de l'alanine-sérine-glycine, et qu'il se constitue un groupe phénylalanine-tyrosine.

5° - Les niveaux de l'azote α -aminé total dans le foie, le muscle et le rein ne montrent pas de changements importants; cependant, quelques composés α -aminés subissent des modifications sous l'effet du CO_2 . Dans le foie, on note une hausse de la lysine, de la thréonine et de la sérine. Dans le muscle, on constate une augmentation légère de l'alanine, de la sérine et de la thréonine, et une diminution du glutamate. Dans le rein, la sérine est en augmentation, alors que le glutamate et la glucosamine sont fortement diminués. La signification statistique des différences observées n'est pas toujours évidente en raison de l'amplitude des variations individuelles de ces composés.

6° - Chez le rat traité par le tartrate de sodium, le pH sanguin est normal après une heure d'hypercapnie. On constate que l'alanine est le seul amino-acide plasmatique dont le niveau soit modifié (+ 25%). Lorsque le rat traité par le tartrate n'est pas soumis à l'hypercarbie, on observe une diminution significative de l'alanine, de la thréonine, de la sérine et de la lysine du sang et du plasma, par rapport à l'animal normal.

7° - Chez les animaux traités par une solution de métyrapone afin de bloquer la libération des 11-hydroxy-corticostéroïdes, on constate que l'hypercapnie ne produit plus d'augmentation de la sérine et de la glutamine plasmatiques ; d'autres modifications provoquées par le CO₂ chez le rat normal se trouvent atténuées par la métyrapone, comme la diminution de la tyrosine et du glutamate plasmatiques, ainsi que celle de la glycine intraglobulaire. En revanche, l'alanine plasmatique est très fortement augmentée. Le niveau sanguin des acides aminés à chaîne ramifiée (valine, isoleucine, leucine) est abaissé par la métyrapone, que l'animal soit hypercapnique ou non.

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION

DISCUSSION DES RESULTATS

A - SPECIFICITE DES EFFETS DE L'HYPERCAPNIE.

On pourrait se demander dans quelle mesure les effets observés sont spécifiquement imputables à l'hypercapnie ; on sait que l'augmentation de $P_A\text{CO}_2$ entraîne un déplacement vers la droite de la courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène, si bien que l'on peut penser que l'hypoxie intervient, au moins pour une part, dans les phénomènes observés. En effet, PERES a montré que l'hypoxie progressive entraîne chez le rat de l'hypoprotéïnémie (164) et une forte augmentation de l'azote α -aminé libre du plasma (+ 54%); mais ce dernier effet ne s'observe que pour une hypoxie sévère ($F_{I\text{O}_2} < 0,035$) car aussi longtemps que le taux de l'oxygène dans l'air inspiré reste supérieur à 5 pour 100, le niveau plasmatique de l'azote α -aminé libre est légèrement diminué par rapport à celui des témoins (165).

La superposition des courbes retraçant l'évolution des composés α -aminés libres, telle qu'elle apparaît d'après nos résultats, permet de bien dissocier les effets de l'hypercapnie de ceux de l'hypoxie. L'effet typique de l'hypoxie est une diminution de la composante amino-acide du sang alors que celui du CO_2 est, en revanche, une augmentation qui se manifeste même lorsque l'hypercapnie s'accompagne d'hypoxie. Il est permis de se demander si cette symétrie d'effets ne viendrait pas de ce qu'en fin de compte le phénomène attribué à l'hypoxie serait plutôt imputable à l'hypocapnie qui résulte de l'hyperventilation déclenchée par l'hypoxie. Une telle hypothèse repose sur le fait que de nombreux troubles métaboliques observés lors de l'hypoxie expérimentale peuvent être reproduits lorsque l'on procède simplement à des épreuves d'hyperventilation normoxique ; de même, l'hypoxie normocapnique ne reproduit généralement pas les effets de l'hypoxie (196) ; cette explication est plausible pour l'hypoxie relativement modérée que l'on réalise pendant une courte durée ; en effet, dans des conditions expérimentales comparables aux nôtres, ALTLAND et BRUBACH (7) ont montré chez le rat que l'hypoxie réalisée par inhalation d'une atmosphère dont $F_{I\text{O}_2}$ est égale à 0,083, entraîne en 20 minutes une augmentation du pH, qui passe de 7,40 à 7,55, une diminution de la saturation en oxygène (61 p. 100 au lieu de 91,3 p. 100) et un abaissement de P_{CO_2} (25,3 mm Hg contre 38,0 mm Hg). Cependant quand l'hypoxie se prolonge, l'acidose apparaît (CORDIER-49) et les résultats acquis au bout de 6 heures d'hypoxie, comparés à ceux que l'hypoxie hypercapnique produit au terme d'une expérience de même durée, prouvent indubitablement

que l'abaissement des amino-acides sanguins est alors bien dû à l'hypoxie proprement dite et non à l'hypocapnie. Réciproquement, l'atténuation des effets de l'hypercapnie lorsque l'hypoxie s'y ajoute est, pensons-nous, un argument en faveur du rôle propre de l'anhydride carbonique dans le phénomène d'augmentation de l'azote α -aminé du sang.

Il s'agit toutefois de déterminer si le CO_2 agit directement ou par l'entremise de l'acidose qu'il entraîne. Or les effets de l'acidose sur les composés α -aminés sont imparfaitement connus. Si SBARSKY (198) rapporte qu'*in vitro* l'abaissement du pH favorise l'accumulation intraglobulaire de l'azote aminé, en revanche DEQUIDT (60) a montré que la migration des amino-acides à travers une membrane de cellophane peut se produire sous l'influence du CO_2 , sans que l'on puisse invoquer dans ce cas l'acidification du milieu.

Pour éviter l'acidose consécutive à l'hypercapnie, l'on connaît divers moyens expérimentaux, consistant en l'administration de tampons organiques ou d'agents alcalinisants, comme le tartrate de sodium. Nous avons eu recours à ce dernier, et nous voyons que lorsque le pH se maintient à sa valeur initiale, l'hypercapnie continue de produire une augmentation de certains amino-acides (sérine, glycine et surtout alanine) alors que d'autres phénomènes disparaissent ou s'atténuent (comme la diminution du glutamate et de la tyrosine). Il apparaît donc que l'on ne peut attribuer en bloc à l'acidose les variations provoquées par l'hypercapnie.

Une autre conséquence de l'hypercapnie est l'hypothermie. Celle-ci est modeste chez le Rat, et STUPFEL (219) a montré que pour $F_{\text{I CO}_2} \leq 0,10$, l'abaissement de la température centrale est très faible. Nous avons observé nous-même chez nos animaux une variation de moins de 1° . On peut donc penser que nos résultats ne sont pas à mettre sur le compte de l'hypothermie.

On a certes signalé une élévation de l'azote non protéique chez le rat hypothermique dont la température centrale n'est plus que de 15°C (215). Mais cette forte hypothermie a été réalisée par la méthode du confinement asphyxique à basse température (méthode de GIAJA), ce qui ne permet pas de différencier la part de l'hypothermie proprement dite et celle de l'hypoxie hypercapnique.

Enfin, il paraît exclu, d'après nos résultats actographiques, de mettre en rapport les variations des composés α -aminés avec un état dépressif éventuellement provoqué par l'inhalation d'un mélange gazeux contenant 10 p. 100 de CO_2 . En fait, le seuil d'apparition des phénomènes de narcose carbonique diffère d'une espèce à l'autre, et le rat est à cet égard très résistant : il peut survivre indéfiniment quand on le place dans une atmosphère contenant 10 p. 100 de CO_2 et les états dépressifs ne se manifestent qu'au delà de 20 p. 100 (14, 46).

G. ROUGIER (191) a pu préciser la concentration dangereuse du CO_2 pour le rat : des animaux introduits sous une cloche de verre et

inhalant une atmosphère contenant 23 p. 100 de CO_2 montrent un fléchissement des pattes avec tendance à la chute. A 25 p. 100, l'auteur observe une diminution de la sensibilité cutanée, à 26 p. 100, la résolution musculaire totale. Avec 28 p. 100 de CO_2 , l'animal est effondré et complètement insensible. Il convient d'observer que l'atténuation des effets de l'hypercapnie sur la composante amino-acide, lorsque $^F\text{I}_{\text{CO}_2}$ passe de 0,10 à 0,20, pourrait s'expliquer sur la base de ces constatations.

B - ROLE DES HEMATIES DANS LE TRANSPORT DES ACIDES AMINES.

On admet, depuis SBARSKY (198) qu'une élévation du taux de l'azote α -aminé dans le sang total porte surtout sur la fraction globulaire, dans la plupart des cas étudiés. Ce phénomène se produit notamment, d'après CHRISTENSEN (39) lors de la surcharge en acides aminés consécutive à un repas : l'augmentation est beaucoup plus rapide dans les hématies que dans le plasma. Nous constatons que la teneur intraglobulaire des composés α -aminés libres totaux est effectivement plus élevée chez les animaux normalement alimentés que chez les animaux privés de nourriture depuis la veille. Lorsque l'on soumet ces animaux à l'hypercarbie, on note une augmentation du taux intraglobulaire de l'azote α -aminé; la hausse relative la plus forte se produit chez les animaux à jeûn, dont le taux initial est le plus faible.

L'hyperamino-acidémie provoquée par le CO_2 reflète l'augmentation du niveau intraglobulaire. Il est toutefois des cas où l'on observe parallèlement une augmentation du niveau plasmatique. Il semble que l'on puisse proposer pour ce phénomène l'explication suivante : lorsque le niveau de la composante amino-acide plasmatique est relativement faible, les amino-acides libérés dans le sang se répartissent également entre le plasma et les hématies (c'est ce qui se produit au cours de l'expérience rapportée page 79) ; dans le cas où le niveau plasmatique initial est déjà élevé, la surcharge est prise en compte par les hématies, sans doute après un certain délai, si l'on en juge par la hausse temporaire du niveau plasmatique après 30 minutes d'hypercapnie. Ceci confirme exactement les observations *in vitro* de SBARSKY (198) d'après lesquelles les échanges ne se produisent que lorsqu'un taux suffisant d'acide-amino est atteint dans le plasma.

Un tel rôle des hématies dans le transport des acides aminés a été récemment mis en évidence par AOKI et al. (11) : chez l'homme, la captation de glutamate par le tissu musculaire sous l'effet de l'insuline s'effectue aux dépens des hématies ; en effet, la différence des concentrations artério-veineuses augmente significativement dans le sang total, alors qu'elle ne change pas dans le plasma. De plus, les auteurs ont constaté que, dans le sang des sujets normaux, il se produit un passage du

glutamate du plasma artériel vers le muscle et vers les hématies.

Bien que le problème de la perméabilité des hématies aux amino-acides soit abondamment étudié, les échanges d'acides aminés entre le plasma et les hématies sous l'influence du CO_2 n'ont donné lieu qu'à un petit nombre d'expériences. BOULANGER et ses élèves (25, 28) ont montré que, lorsque l'on oxygène un échantillon de sang préalablement additionné de D-alanine, on constate une diminution du taux de l'azote aminé du plasma. On peut le ramener à sa valeur initiale après passage de CO_2 ou après désoxygénation sous pression réduite. Il s'agit bien d'une migration de l'acide aminé du plasma vers les hématies, et vice-versa, puisque des hématies d'un sang préalablement oxygéné, mises en suspension dans une solution de polyvinylpyrrolidone, y libèrent leur azote aminé sous l'effet d'un courant de CO_2 . Ces résultats, obtenus in vitro avec des acides aminés de la série D, ne peuvent être transposés, tels quels, chez l'être vivant ayant à assurer son homéostasie par des moyens variés qui touchent tout l'organisme ; ils n'en illustrent pas moins l'importance du rôle joué par les hématies dans le transport des amino-acides.

C - ORIGINES TISSULAIRES DES AMINO-ACIDES.

On a suggéré à plusieurs reprises, à la suite d'expériences de perfusion hépatique in vivo ou in vitro, que ce serait le foie qui, chez le rat, contrôlerait la concentration plasmatique des acides aminés (140-202). Une telle conception ne paraît pas admissible dans tous les cas. D'une part, PITTS et ses collaborateurs ont montré que certains acides aminés sont synthétisés dans le rein en quantités importantes ; c'est le cas de l'alanine, grâce à une réaction de transamination avec la glutamine ou le glutamate (177-218), c'est aussi le cas de la sérine, produite à partir de la glycine grâce à la sérine transhydroxyméthylase (174). D'autre part, les muscles sont de bons pourvoyeurs d'acides aminés libres ; les variations intramusculaires jouent au cours du jeûne un rôle essentiel vis-à-vis des niveaux plasmatiques des divers acides aminés, aussi bien chez l'homme (66) que chez le rat (2). Ceci vient d'être confirmé par MARLISS et al. (137), grâce à des déterminations comparatives des amino-acides dans le sang afférent et efférent d'un membre postérieur ; le muscle relâche dans le sang veineux les composés suivants, rangés dans l'ordre des différences artérioveineuses décroissantes : glutamine, alanine, lysine, glycine, proline, thréonine, arginine, valine, leucine, histidine, isoleucine, tyrosine, phénylalanine, méthionine, tryptophane, sérine et ornithine. Tous ces acides aminés sont prélevés par les organes de l'aire splanchnique, sauf la lysine et, dans une moindre mesure, l'arginine ; en revanche, le muscle prélève dans le sang l'acide glutamique, ainsi qu'un peu de cystine et de citrulline. Il est par ailleurs connu que la glutamine synthétase est très active dans le tissu musculaire et que les tissus périphériques produi-

sent d'importantes quantités de glutamine ⁽¹⁾ (10, 111).

On ne peut manquer d'être frappé par la ressemblance entre les effets de l'hypercapnie (chute du glutamate, hausse de la glutamine , alanine, lysine, glycine, thréonine, sérine) et les phénomènes décrits par MARLISS. A cet égard, la hausse importante de la lysine plasmatique paraît particulièrement probante, car il s'agit d'un amino-acide faiblement prélevé - chez l'homme - dans l'aire splanchnique (137). La hausse des autres composés aminés serait sans doute aussi élevée, si d'autres processus n'intervenaient pas pour en abaisser le niveau.

L'augmentation de la sérine et de la thréonine dans le plasma des animaux hypercapniques peut résulter, soit d'une libération accrue à partir des tissus, soit d'une diminution du catabolisme. En fait, comme pour tout amino-acide sanguin, le niveau est déterminé par la balance entre ces deux processus. Il y a lieu de croire que les deux acides aminés sont , au cours de l'hypercapnie, contrôlés par un mécanisme analogue, puisque l'on note l'apparition d'un coefficient de corrélation positif et significatif entre leurs niveaux plasmatiques. De plus, l'un et l'autre sont fortement augmentés dans le foie. Il est permis d'interpréter ces faits comme se rapportant à la désamination oxydative catalysée par la sérine déshydratase (E. C. 4.2.1.14) ou par la thréonine déshydratase (E. C. 4.2.1.16), de façon irréversible, en présence de pyridoxal, pour produire NH_3 et un cétoacide. Ces enzymes sont assez rapidement inductibles, comme l'ont montré de nombreuses expériences réalisées avec des régimes hyperprotidiques (8, 170) ou avec le glucagon (102) et les corticostéroïdes (204) .

L'existence d'une corrélation entre la thréonine et la glycine (alors qu'il n'existe aucune corrélation partielle entre la sérine et la glycine lorsque la thréonine est supposée invariable) nous indique que si la thréonine et la sérine ont un catabolisme comparable, leur origine est probablement différente. La thréonine aurait une origine commune avec la glycine, et proviendrait au moins partiellement du muscle ⁽²⁾ , comme le suggèrent les travaux de MARLISS (137). La sérine n'est pas libérée par le muscle, au cours des expériences de MARLISS, et l'absence de corrélation entre la sérine et la glycine constitue un indice qu'il en est sans doute de même chez le rat, lors de l'acidose hypercapnique. Du reste, nous

(1) ADDAE et LOTSPEICH (1) ont considéré le foie comme le lieu privilégié de la synthèse de la glutamine. En fait, grâce à des expériences de perfusion de foie de rat isolé, LUECK et MILLER (133) ont montré qu'à pH 7.1, la synthèse de la glutamine est moins élevée qu'à pH 7.4 , mais sa fixation dans le tissu hépatique diminue de moitié, si bien qu'elle se trouve libérée en quantité accrue dans le perfusat.

(2) La thréonine et la glycine ont sans doute également une origine intraglobulaire. (Cf. Tableau XIII .)

observons une nette augmentation de la sérine dans le rein, mais non de la glycine ni de la thréonine.

Néanmoins, autant que la libération à partir de certains tissus, les variations des amino-acides sanguins reflètent des changements dans la balance des entrées et des sorties des divers tissus. Ceci est attesté par l'absence de changements vraiment importants dans les trois tissus que nous avons examinés, le foie, le muscle et le rein. Des expériences avec des radioisotopes seraient souhaitables à ce point de vue, mais n'ont été effectuées que dans un petit nombre de cas (3) avec des molécules non métabolisables (cycloleucine, acide amino-isobutyrique) et leurs résultats sont d'interprétation difficile.

D - LIEN AVEC LA PROTIDOGENESE.

L'emploi du calcul des corrélations nous a permis de montrer que, chez le rat normal, il existe une étroite corrélation statistique entre les amino-acides à chaîne ramifiée (leucine, isoleucine, valine). Or de nombreuses études ont fait apparaître des similitudes entre ces composés (63) ; leur transamination est catalysée par la même enzyme, la leucine amino-transférase (E. C. 2. 6. 1. 6.), dont MIMURA et YAMADA (141) ont montré la faible induction dans le foie et l'inégale répartition dans les tissus (chez le rat, l'activité transaminasique est six fois plus élevée dans le rein que dans le muscle, et seize fois plus que dans le foie). Ceci est en bon accord avec le fait que ces amino-acides ne sont guère métabolisés dans le foie (140) ; ils sont relâchés massivement par cet organe lors d'une urémie expérimentale, au contraire de tous les autres amino-acides (120). Chez le chien, leur niveau plasmatique diminue après hépatectomie (138) ce qui peut s'interpréter comme l'indice d'une importante utilisation périphérique.

Plusieurs expérimentateurs ont établi un lien entre la protéolyse et le sort des acides aminés à chaîne ramifiée. MONDON et MORTIMORE (144) ont pu établir, lors d'expériences de perfusion hépatique, un parallélisme entre la protéolyse et la sortie de la valine; l'insuline y porte remède. Du reste, l'intervention de l'insuline se limite pratiquement à ces trois acides aminés si l'on en juge par les expériences de SCHARFF et WOOL (201) résumées dans notre tableau XXXIV, p. 134. Plus récemment, ADIBI (2) a observé, au cours du jeûne prolongé chez le rat que la hausse des acides aminés à chaîne ramifiée est importante dans le muscle et précède l'augmentation de la valine, de la leucine et de l'isoleucine dans le plasma : elle est sans commune mesure avec l'abaissement observé simultanément dans le foie ou le rein, tissus dans lesquels ces amino-acides sont dix à douze fois moins concentrés que dans le muscle. Comme la protéolyse représente la seule source possible de ces amino-acides, en l'absence de tout apport alimentaire, on peut en conclure que, dans les expériences d'ADIBI, le ralentissement de la

protidogénèse hépatique et l'accroissement de la protéolyse musculaire produisent les phénomènes observés ⁽¹⁾ .

Le fait que les niveaux plasmatiques et tissulaires de la valine, de l'isoleucine et de la leucine ne soient pas modifiés par le CO_2 tend à prouver que, du moins au début de l'hypercapnie, les variations subies par les acides aminés ne sont pas à mettre en rapport avec un ralentissement de la protidogénèse ou une protéolyse accrue. En effet, il n'est guère possible d'admettre que ces niveaux constants puissent résulter d'une balance en équilibre entre des phénomènes de libération par certains tissus, comme le foie et de captation par d'autres tissus : les coefficients de variation des animaux hypercapniques sont identiques, voire plus faibles, que ceux des animaux normaux ; l'activité métabolique n'a donc pas augmenté, et cela s'accorde avec le fait précédemment rappelé que la leucine aminotransférase est une enzyme faiblement inductible.

Du reste, l'accroissement éventuel du catabolisme des protides paraît peu probable, si l'on envisage les résultats de diverses expériences d'acidose métabolique expérimentale : la biogénèse des protéines ne semble ralentie ni dans le rein par l'acidose métabolique (20), ni dans le foie où, LUECK et MILLER (133) ont au contraire observé une synthèse accrue de certaines protéines plasmatiques. Lors de l'hypercapnie modérée, PERES (164) n'a pas observé d'abaissement des protéines plasmatiques et ce résultat est confirmé par nos propres expériences.

Aussi pouvons-nous adopter pour notre étude la conclusion tirée par FLORKIN et al. (74) de leurs recherches sur les variations de la composante aminoacide au cours de l'osmorégulation : "la variation de la composante amino-acide intracellulaire relève d'une modification de l'équilibre des phénomènes de charge et de décharge, par synthèse des acides aminés et par leur désamination suivie de la métabolisation des acides cétoniques correspondants " .

E - HYPERAMINO-ACIDEMIE ET UREOGENESE .

La glutamine est considérée depuis LEUTHARDT (126) comme la forme par excellence sous laquelle NH_3 serait transporté dans le sang à partir des organes où s'effectuent les désaminations, jusqu'au foie où a

(1) ADIBI rejette cependant cette conclusion, en se fondant sur le fait que les amino-acides les plus fréquents dans les protéines, comme l'alanine et la glycine, sont en diminution dans les tissus des animaux jeûneurs. C'est méconnaître, selon nous, le rôle essentiel de ces acides aminés dans les processus de néoglycogénèse activés par le jeûne chez le rat (208) .

lieu la synthèse de l'urée. Dans la mesure où, en acidose, l'augmentation de l'excrétion urinaire d'ammoniac fait appel à des quantités accrues de glutamine, l'on pourrait s'attendre à une diminution de la formation hépatique de l'urée.

Les faits expérimentaux que l'on peut citer à l'appui de cette hypothèse sont toutefois peu nombreux :

a) Lorsque des rats se trouvent en acidose après un traitement poursuivi pendant plusieurs jours par du chlorure d'ammonium, l'activité de certaines enzymes du cycle de KREBS-HENSELEIT est, d'après FLORES et al. (72) nettement diminuée dans le foie : c'est le cas de la carbamyl-phosphate synthétase (E. C. 2. 7. 2. 5) de l'ornithine-carbamyl transférase (E. C. 2. 1. 3. 3) et de l'arginino-succinate synthétase (E. C. 6. 3. 4. 5) ; il faut noter que , d'après les résultats obtenus par SCHIMKE (203) et FLORES dans diverses conditions expérimentales, les activités enzymatiques relatives au cycle de KREBS-HENSELEIT ne semblent guère susceptibles d'adaptations rapides.

b) La synthèse de la glutamine dans le foie perfusé, *in vitro* , est plus faible à pH 7.15 qu'à pH 7.45, mais la fixation de cette molécule par le tissu hépatique est diminuée fortement au pH acide, si bien qu'elle se trouve libérée dans le perfusat (133). Or, au cours de la même expérience , l'uréogénèse diminue proportionnellement à la durée de l'acidose.

Il faut observer que les effets de l'acidose hypercapnique risquent d'être assez différents de ceux de l'acidose métabolique expérimentale : vu la participation du CO_2 dans la biogénèse de l'urée, l'on peut penser que toute augmentation de P_{CO_2} jouera pour favoriser la formation du carbamyl-phosphate.

Les variations de l'urée sanguine et urinaire sous l'influence du pH n'ont guère été étudiées (224). MAGGI (135) a noté une diminution significative de l'urée plasmatique chez des rats ayant inhalé, pendant 2 h 30mn un mélange hypercarbique ($\text{F}_{\text{I CO}_2} = 0,10$) Nous n'avons pas observé nous-même de changement dans la concentration plasmatique ou intraglobulaire de l'urée, au cours de plusieurs séries d'expériences d'hypercapnie modérée ($\text{F}_{\text{I CO}_2} = 0,10$; durée 1 heure). La divergence entre nos résultats et ceux de MAGGI peut tenir aux différences de conditions expérimentales. Le protocole expérimental mis en oeuvre par cet auteur est, en effet, bien particulier, car il s'agit d'animaux qui ont subi un jeûne préalable de 48 h , et chez lesquels on pratique après laparotomie, une perfusion intestinale de glucose isotonique . Il est également possible que la divergence des résultats provienne de la durée même des expériences, ce qui impliquerait que l'hypercapnie n'exerce vis à vis de l'urée que des effets relativement tardifs. Ceci s'accorde avec le fait que, dans nos expériences, les niveaux des amino-acides participant au cycle de l'urée ne subissent aucun bouleversement, ni dans le sang, ni dans le foie.

Dans ces conditions, il paraît difficile d'imputer la hausse de certains amino-acides sanguins à un ralentissement de l'uréogénèse hépatique.

F - ROLE DES AMINO-ACIDES DANS LA NEOGLYCOGENESE .

Les modifications les plus importantes suscitées par l'hypercapnie sont une augmentation de l'alanine plasmatique et une diminution du glutamate ainsi que de la tyrosine. Nous nous sommes demandé si l'on pouvait mettre en évidence une corrélation négative entre le glutamate et l'alanine, dans l'hypothèse où l'alanine serait formée par transamination aux dépens du glutamate. Or la corrélation est positive; il n'y a donc pas lieu de faire jouer un rôle déterminant à l'alanine aminotransférase sanguine. Du reste, l'activité de cette enzyme n'est pas modifiée en hypercapnie, alors que nous avons mis en évidence une nette augmentation de l'activité de l'aspartate aminotransférase du plasma (12). Une telle augmentation dans le plasma peut tenir à diverses causes; on invoque notamment un changement dans la perméabilité de certains tissus (foie), une nécrose tissulaire du foie ou du coeur lors de certains états de choc, ou encore un réarrangement structural à partir de monomères inactifs; quoi qu'il en soit, ces amino-transférases peuvent, d'après KERLY et SPRUYT (110) jouer un rôle très actif vis à vis des amino-acides plasmatiques. La hausse de l'aspartate aminotransférase plasmatique ne peut cependant pas être rapprochée d'un changement notable de l'aspartate du plasma. Mais, dans le cas de l'aspartate ou de l'oxalacétate, les vitesses de renouvellement jouent sans doute un rôle plus important que les niveaux, et échappent à notre analyse.

Il paraît peu probable que des transaminations aient lieu dans d'autres tissus pour aboutir à la formation d'alanine. Comme la variation d'énergie libre est peu considérable lors de la réaction de transamination, cette réaction est parfaitement réversible, et son sens ne dépend que des états d'oxydo-réduction cellulaire et de la concentration des substrats (69). Or les niveaux de l'acide pyruvique et de l'acide glutamique se trouvent diminués dans le rein du rat lors de l'acidose métabolique expérimentale (85, 87) ainsi que celui de l'acide α -cétoglutarique (4, 85).

PITTS et STONE (177) en ont conclu que la synthèse de l'alanine était peu probable dans le rein, lors de l'acidose et l'augmentation de l'activité de l'alanine aminotransférase dans le rein, constatée par PITTS (172) doit jouer plutôt dans le sens de la synthèse du glutamate. De même; dans le foie, LUECK et MILLER (133) ont observé que les niveaux du pyruvate, du glutamate et de l' α -cétoglutarate sont abaissés lorsque le pH du liquide de perfusion est acide (pH 7.15 contre pH 7.45). Certes, l'on n'a pas noté d'augmentation de l'activité transaminasique dans le foie, pendant l'acidose métabolique expérimentale, que ce soit chez le rat (au cours d'un nombre d'essais il est vrai réduit : PITTS (172) ou chez

le chien (lors d'une seule détermination : POLLAK et al. -178-). Mais la quantité d'enzyme présente dans le foie peut être suffisamment élevée pour ne pas représenter un facteur limitant. De plus OGAWA (158) a montré récemment que l'alanine aminotransférase du foie existe à la fois dans les mitochondries et dans la fraction soluble ; or l'administration de cortisone entraîne une chute de l'activité dans le compartiment mitochondrial, et une augmentation dans l'autre compartiment, de telle sorte que le bilan est nul pour le tissu hépatique considéré dans son ensemble.

Plusieurs auteurs ont récemment considéré l'alanine comme le facteur le plus actif de la néoglycogénèse (67, 160) et il a été démontré expérimentalement par SCHONER et al. (207) que dans le foie, l'alanine favorise l'action de la phosphoénol-pyruvate kinase (E. C. 2. 7. 1. 40), enzyme-clé de la néoglycogénèse (117). Le maintien d'un taux sanguin élevé d'alanine ne peut donc que favoriser la néoglycogénèse. Dans le rein, le catabolisme de l'acide glutamique se trouverait orienté sur la voie de la désamination par la glutamate déshydrogénase (E. C. 1. 4. 1. 3) : en effet PITTS (172) a constaté chez le rat en acidose métabolique chronique une forte augmentation de l'activité de cette enzyme, ainsi que de l'alanine amino-transférase⁽¹⁾. D'autre part, l'on a plusieurs fois signalé une diminution du glutamate rénal, soit lors de l'acidose métabolique expérimentale (85, 87), soit au cours de l'hypercapnie (88), et la diminution du glutamate rénal que nous observons nous-même vient confirmer ces faits.

Est-il possible d'expliquer la diminution du glutamate musculaire par un phénomène impliquant la glutamate déshydrogénase ? En effet, GAUTHERON et ses collaborateurs (64, 79, 84) ont montré que, dans les sarcosomes et les mitochondries de certains tissus musculaires (cœur, utérus), la glutamate déshydrogénase règle le métabolisme du glutamate lorsque l'aspartate aminotransférase n'intervient pas. Par ailleurs, on sait que l'activité de cette enzyme dépend des potentiels d'oxydoréduction cellulaire et des donneurs d'hydrogène (222, 223) et SCHOFFENIELS (205, 206) a comparé le rôle de la glutamate déshydrogénase à celui de la lactate déshydrogénase. On peut à ce propos mettre en parallèle la diminution du glutamate et celle du lactate sanguin lors de l'hypercapnie. Nous avons vérifié au cours de nos expériences l'existence de ce phénomène : après une heure d'hypercarbie ($F_{I\text{CO}_2} = 0,10$), le lactate du sang passe de $3,8 \pm 0,4$ mg/100 ml chez le rat normal à jeun à $2,3 \pm 0,2$ ml ($p \leq 0,05$) chez le rat hypercapnique (BANGE et VIOLLET, résultats inédits). La variation du rapport DPN/DPN red. pourrait rendre compte de ces deux types d'observations.

(1) PITTS n'a noté dans ses expériences aucune variation de l'aspartate aminotransférase. Chez le rat hypercapnique, nous n'avons pas observé nous-même de modifications des activités de l'alanine aminotransférase et de l'aspartate aminotransférase du rein (12).

L'abaissement du niveau plasmatique de la tyrosine peut trouver son explication dans l'hypothèse d'une néoglycogénèse accrue. Outre leur incorporation dans les protéines (et tout spécialement dans la thyroglobuline en ce qui concerne la tyrosine), la phénylalanine et la tyrosine possèdent des voies cataboliques communes, puisque la phénylalanine est facilement hydroxylée. Ces deux amino-acides sont donc, soit transaminés (en donnant naissance à de l'acide glutamique) soit hydroxylés en position méta.

La métahydroxylation conduit à la 3-4-dihydroxyphénylalanine (DOPA), qui se trouve à l'origine de la dopamine, de la noradrénaline et de l'adrénaline. L'enzyme qui assure cette réaction est la tyrosine hydroxylase qui est présente dans le cerveau, la médullo-surrénale et les organes innervés par le système nerveux sympathique (148) ; parmi ces derniers, les parois vasculaires possèdent une activité enzymatique élevée (83). La transamination avec l'aide α -cétoglutarique donne naissance à l'acide glutamique et à l'acide parahydroxyphénylpyruvique, lequel est ensuite excrété. L'enzyme catalysant cette réaction est une aminophérase, la L-Tyrosine-2-cétoglutarate amino-transférase (E. C. 2.6.1.5) ou tyrosine transaminase (TAT). On a montré que cette enzyme, présente dans le foie de nombreux mammifères, a un renouvellement rapide, de l'ordre de 3 à 4 h (109). Aussi existe-t-il une importante variation circadienne de la tyrosine aminotransférase, qui a suscité de nombreux travaux, récemment passés en revue par FULLER (77). D'autre part, la synthèse de cette enzyme est induite par les glucocorticostéroïdes, notamment, chez le rat, par l'hydrocortisone (127) et par la corticostérone (128-210) ; cette induction, très rapide, s'exercerait au niveau de la transcription.

D'autres substances stimulent également l'activité de la tyrosine aminotransférase hépatique; tel est le cas de la thyroxine (129, 187), des hormones hypophysaires (210), des catécholanines, dopamine, adrénaline et surtout noradrénaline (15, 238).

L'influence des catécholamines étudiée par BARTHOLINI (15) mérite d'être décrite avec quelque détail. En effet, chez le rat adulte, une injection intrapéritonéale d'adrénaline (100 μ g/kg de poids corporel) suscite au bout de 90 minutes un accroissement de l'activité transaminasique dans le foie de 46 p. 100, ainsi qu'une chute de la tyrosine plasmatique (-30 p. 100) et une hyperexcrétion urinaire de l'acide parahydroxyphénylpyruvique. Une injection de DOPA (200 mg/kg) produit des phénomènes analogues, et la tyrosinémie baisse de 35 pour 100. Bien que le mécanisme de cette action des catécholamines soit encore inconnu, ce phénomène apparaît d'après BARTHOLINI comme devant exercer un rôle important dans le contrôle de la biosynthèse des catécholamines.

Or un certain nombre d'auteurs ont présenté de bons arguments expérimentaux à l'appui de l'hypothèse selon laquelle la synthèse des catécholamines serait fortement accélérée par l'hypercapnie. C'est ainsi que SCHAEFFER et al. (199) observent une augmentation de poids des glandes

surrénales chez le cobaye, après une heure d'hypercapnie. Le taux des catécholamines dans les surrénales du rat demeure constant en hypercapnie, malgré une forte augmentation des catécholamines plasmatiques (146, 150). Le fait le plus significatif a été rapporté par NAHAS (149) : l'administration d' α -méthyl-L-tyrosine, qui inhibe l'activité de la tyrosine hydroxylase, abaisse très fortement les catécholamines surrénaliennes du rat, lorsqu'il est soumis à l'hypercapnie. A l'aide des résultats obtenus, NAHAS a estimé la quantité de catécholamines produites à $9 \mu\text{g}$ par Kg de poids corporel et par heure, en hypercapnie, contre $0,6 \mu\text{g}$ dans les conditions normales.

Cette biosynthèse de catécholamines est déjà un premier facteur qui peut entraîner une baisse de la tyrosine plasmatique. Il s'agit cependant d'un phénomène limité, puisque la production surrénalienne telle qu'elle est estimée par NAHAS représenterait, chez nos animaux, environ 15 nMoles par heure. Même en ajoutant la biosynthèse qui a lieu dans le tissu nerveux et divers autres organes, on est sans doute loin de l'abaissement de la tyrosine que nous observons dans nos expériences (environ 100 nM par rat en une heure d'hypercapnie). C'est donc plutôt l'augmentation de l'activité de la tyrosine aminotransférase qu'il convient de mettre en cause.

A cet égard, on relèvera que d'après LANE et MAVRIDES (124), la tyrosine amino-transférase se trouve associée, dans le foie du rat, à la phosphoenol pyruvate carboxykinase ou PEPCK (E. C. 4, 1. 1. 32) : même induction par les stéroïdes, même rythme circadien, même relation inverse avec la teneur en glycogène hépatique. Or KREBS (117) a montré que la PEPCK est l'une des enzymes-clés de la néoglycogénèse et la TAT peut, semble-t-il, lui être associée. Aussi, l'importance quantitative de la chute de la tyrosine sous l'effet du CO_2 révèle le rôle actif joué par cet amino-acide dans plusieurs réactions métaboliques rapides, et serait en bon accord avec une activation de la néoglycogénèse au cours de l'hypercapnie.

La hausse de la sérine, de la thréonine et de la lysine exercera également un effet favorable sur la néoglycogénèse, en facilitant la formation de substrat. L'on connaît le rôle des corticostéroïdes (204) dans l'induction de la sérine-déhydratase et de la thréonine-déhydratase (qui favorisent la formation de céto-acides) ; en revanche on ne connaît pas la régulation de l'activité de la lysine- α -cétoglutarate : TPNH oxydoréductase⁽¹⁾, enzyme découverte en 1965 par HIGASHINO et al. (98) dans le foie du rat.

(1) Cette enzyme permet la formation de saccharopine, ultérieurement scindée en glutamate et acide α -amino-adipique.

G - INTERVENTION DES HORMONES CORTICOSURRENALIENNES .

Les effets que nous observons, et plus particulièrement la hausse de l'alanine et la chute du glutamate et de la tyrosine, figurent parmi les éléments caractéristiques de la néoglycogénèse. Les hormones qui, directement ou indirectement contrôlent ce processus sont les corticostéroïdes, la thyroxine, l'insuline, le glucagon et l'adrénaline. Pour ces trois dernières substances, ce sont les cas d'insuffisance hormonale qu'il convient surtout de retenir. Nous avons récapitulé dans le tableau XXXIV en annexe pp. 134 à 136 les données de la littérature relatives à l'hypoinsulinémie et à la pancréatectomie (201), aux corticostéroïdes (19, 188, 194) ainsi qu'à la thyroxine (236, 237). Les conséquences de l'hypoinsulinémie s'appliquent à la thréonine, à l'alanine et surtout aux acides aminés à chaîne ramifiée, qui ne sont pas affectés par l'hypercapnie. La thyroxine augmente considérablement la plupart des amino-acides essentiels, et en particulier l'isoleucine et l'histidine, alors qu'elle diminue la méthionine. L'hydrocortisone et la cortisone exercent des effets positifs sur presque tous les acides aminés; toutefois, la cortisone diminue la tyrosine et la lysine, et l'hydrocortisone abaisse le glutamate. Nous sommes loin d'observer au cours de l'hypercapnie des effets strictement superposables à ceux de la cortisone, puisque nous constatons pour notre part une hausse de la lysine et une chute du glutamate. En revanche, la chute de la tyrosine est importante dans les deux types d'expérience.

Les expériences menées avec la métyrapone montrent qu'il convient de ne pas attribuer aux hormones corticosurrénaliennes tous les effets de l'hypercapnie. Le cas de l'alanine est à cet égard très suggestif; le CO₂ provoque une hausse de l'alanine plasmatique, plus forte encore chez les rats traités par la métyrapone. Il en est de même pour l'augmentation de la lysine. Par contre, on pourra rapporter à l'action spécifique des hormones corticosurrénaliennes les changements d'autres amino-acides induits par l'hypercapnie chez le rat normal, lorsqu'ils se trouvent atténués ou supprimés par la métyrapone. Tel est le cas de la tyrosine et de la phénylalanine; la chute de la phénylalanine plasmatique provoquée par le CO₂ disparaît lorsque l'on traite les rats par la métyrapone, et celle de la tyrosine est fortement ralentie dans le plasma, alors qu'elle demeure forte dans les hématies. Il en est de même pour le glutamate plasmatique. A cet égard, si l'on retient l'hypothèse selon laquelle les changements les plus marqués des amino-acides plasmatiques au cours de l'hypercapnie sont imputables à la néoglycogénèse, il y aurait lieu de dissocier les phénomènes affectant l'alanine et ceux auxquels participe la tyrosine. Ceci est en bon accord avec les observations de FOSTER et al. (75), de BENKERT et MATUSSEK (16, 17), et de LANE et MAVRIDES (124) d'après lesquels, parmi les enzymes responsables de la néoglycogénèse, seules la phospho-énolpyruvate carboxykinase et la tyrosine transaminase répondraient rapidement aux injections de cortisol.

Enfin, il convient d'observer que si la métyrapone ne modifie pas les corrélations existant chez le rat normal entre la valine, la leucine et l'isoleucine, elle diminue fortement le niveau intraglobulaire de ces trois amino-acides chez le rat normal et plus encore chez le rat hypercapnique. Il apparaît donc que les hormones corticosurrénaliennes sont

indispensables au maintien du taux intracellulaire normal d'acides aminés à chaîne ramifiée et principalement d'isoleucine.

H - SIGNIFICATION FONCTIONNELLE.

Au cours d'expériences d'acidose métabolique expérimentale, LYON et PITTS (134) ont observé chez le rat une augmentation du prélèvement rénal de la glutamine. Ceci avait déjà été observé chez l'homme (159) et chez le chien (209). Néanmoins, le taux plasmatique de la glutamine ne changerait pas, du moins dans le cas du rat (134); en ce qui concerne le chien, on peut se demander si cette assertion est exacte, en procédant à un examen détaillé des résultats expérimentaux de SHALHOUB et PITTS (209).

Ces auteurs ont provoqué l'acidose ou l'alcalose chez des chiens en leur faisant ingérer soit du chlorure d'ammonium (10 g par jour pendant 3 jours avant l'expérience), soit du bicarbonate de sodium. Les déterminations des acides aminés présents dans le sang artériel afférent au rein et dans le sang veineux efférent ont été réalisées au moyen d'un analyseur Beckman 120.

D'après ces expériences, dont nous avons analysé les données dans l'annexe 3, l'acidose peut être opposée à l'alcalose ⁽¹⁾ : on note le taux significativement plus élevé en acidose de l'alanine, de la glutamine et de la thréonine. Les concentrations de la sérine, de la lysine, de la proline, de l'arginine sont également plus élevées, mais la dispersion des mesures ne permet pas de conclure quant à la signification statistique de ces variations.

Bien que les changements produits par le CO_2 chez le rat, au cours de nos expériences soient plus faibles par rapport aux conditions normocapniques que ceux que l'on relève chez le chien en confrontant l'acidose et l'alcalose, le sens des variations ainsi que leur importance relative présentent une singulière ressemblance dans le cas des acides aminés dont les niveaux sont majorés, puisque nous avons montré qu'il s'agit de l'alanine, de la sérine, de la lysine, de la glutamine et de la thréonine.

On peut se demander si l'intérêt porté à la glutamine comme source de l'ammoniac rénal n'a pas été trop exclusif : en effet, GOLDSTEIN et SCHOOLER (88) ont établi qu'en procédant au blocage de la synthèse de la glutaminase par l'actinomycine, on ne ralentit pas l'excrétion d'ions NH_4^+ et WEISS et PREUSS (233) ont inhibé la glutamine-synthétase par la méthionine-sulfoximine sans modifier l'ammoniurie alors que la concentration plasmatique de la glutamine est fortement diminuée chez des rats ainsi traités, au bout de 4 heures d'acidose métabolique expérimentale. De telles expériences prouvent que l'ammoniogénèse est un phénomène important réalisable par des mécanismes multiples en fonction des circonstances. La hausse d'ailleurs modeste de la glutamine plasmatique

(1) PITTS et ses collaborateurs n'ont pas effectué, semble-t-il, de déterminations sur les animaux normaux.

chez le rat en acidose hypercapnique n'est sans doute que l'un des nombreux facteurs (dont aucun ne serait par lui-même indispensable) qui assurent l'ammoniogénèse et l'excrétion rénale des ions H^+ .

L'augmentation de l'alanine sanguine chez le rat hypercapnique est en bon accord avec le rôle important que l'on reconnaît maintenant à cet acide aminé dans l'excrétion urinaire de l'ammoniac. En effet, PITTS et PILKINGTON (176) ont montré que chez le chien l'alanine est un précurseur de l'ammoniac et, d'après STONE et PITTS (218), elle peut être synthétisée en quantité substantielle par le tissu rénal à partir de l'azote aminé de la glutamine. Si le niveau plasmatique de l'alanine augmente, la synthèse rénale de cet amino-acide diminue et la quantité d'ions NH_4^+ issus de l'alanine augmente. Un taux sanguin élevé d'alanine ne peut donc que favoriser l'ammoniogénèse, et stimuler la néoglycogénèse.

Il paraît évident, d'après l'ensemble des résultats actuellement acquis, que la néoglycogénèse représente un phénomène métabolique majeur déclenché par l'hypercapnie, et cela dans de nombreux tissus. Aussi y-a-t-il lieu sans doute de replacer dans cette perspective le problème de la circulation de la glutamine et des amino-acides ainsi que celui de l'ammoniogénèse : sans minimiser l'importance fonctionnelle de ces phénomènes, il convient d'aborder leur étude expérimentale en les considérant non comme des fins en soi (transport de NH_3 et excrétion des protons), mais bien comme des conséquences, assurément bénéfiques, d'un ensemble de processus métaboliques et physiologiques qui intéressent l'organisme tout entier.

CONCLUSIONS

S'il est bien établi que l'hypercapnie, comme l'acidose métabolique, provoque une augmentation de l'excrétion urinaire de l'ammoniac grâce à une hydrolyse de la glutamine et de certains acides aminés, en revanche l'origine extrarénale des composés ammoniogènes est peu connue. Nous avons donc cherché à caractériser les variations des acides aminés circulants.

1°- Sous l'effet de l'hypercapnie, la composante amino-acide du sang est augmentée. L'élévation la plus forte s'observe lorsque les animaux inhalent pendant 1 à 2 heures une atmosphère contenant 10 pour 100 de CO_2 .

2°- La hausse des composés α -aminés libres totaux affecte, de façon plus ou moins marquée, selon les conditions expérimentales, le plasma puis les hématies. Il se produit une accumulation intraglobulaire de composés α -aminés.

3°- Le taux des acides aminés du plasma et des hématies est plus élevé chez les animaux normalement nourris que chez les animaux mis à jeûn avant l'expérience. Le niveau atteint lors de l'hypercapnie est comparable chez ces deux types d'animaux, et il apparaît que l'enrichissement relatif du plasma et des hématies dépend des niveaux initiaux respectifs des acides aminés.

4°- Lors de l'asphyxie expérimentale associant l'hypercapnie et l'hypoxie, (réalisée par inhalation d'une atmosphère contenant 10 pour 100 de CO_2 et 7 pour 100 d' O_2), la composante amino-acide du sang est augmentée comme lors de l'hypercapnie simple. En revanche, dans les conditions de l'hypoxie (inhalation d'une atmosphère contenant 7 pour 100 d' O_2), on constate une diminution de la composante amino-acide. On peut donc admettre que l'augmentation de la composante amino-acide du sang est un fait caractéristique de l'hypercapnie, et ne constitue pas un effet secondaire consécutif à l'hypoxémie par effet Bohr.

5°- Lorsque l'on procède au dosage chromatographique des composés α -aminés, on constate que l'augmentation de la composante amino-

acide n'est pas dûe à un changement uniforme de tous les amino-acides. Dans le plasma, le CO_2 suscite une hausse significative de l'alanine (+ 17 %) et de la sérine (+ 21 %) ; on doit noter également l'élévation de la thréonine, de la lysine et de la glutamine, plus irrégulière et moins significative. L'acide glutamique, la tyrosine et la phénylalanine sont très fortement diminués. Les variations intraglobulaires sont plus restreintes et vont dans le même sens que celles du plasma, sauf pour la thréonine et la glycine dont le niveau baisse significativement dans les hématies.

6° - L'hypercapnie ne modifie pas sensiblement le tableau des corrélations notées chez le rat normal, chez lequel on peut définir notamment un groupe des amino-acides à chaîne ramifiée (valine, leucine, isoleucine) à coefficient de corrélation élevé ($r > 0,90$) ainsi qu'un groupe constitué par l'alanine, la glycine et la thréonine, à corrélation assez lâche ($r \approx 0,50$). Sous l'effet du CO_2 , la sérine vient se joindre au groupe de l'alanine-thréonine-glycine, dont les coefficients de corrélation sont augmentés; de plus, il se constitue un groupe phénylalanine-tyrosine.

7° - L'administration de tartrate de sodium exerce un effet alcalinisant sur l'organisme. Chez le rat soumis à un tel traitement, on constate qu'il ne se produit pas d'abaissement du pH sanguin après une heure d'hypercapnie. Parmi les acides aminés dont le niveau s'élève sous l'influence du CO_2 , seule l'alanine reste fortement augmentée (+ 25 % dans le plasma ; + 64 % dans les hématies) ; la tyrosine se trouve diminuée, de façon moins importante chez le rat traité que chez le rat normal.

Il apparaît d'après ces résultats que l'hypercapnie n'agit pas exclusivement par l'acidose qu'elle provoque : certains processus métaboliques sont mis en oeuvre par la chute du pH, mais d'autres relèvent d'une action propre de l'anhydride carbonique.

8° - Chez les animaux traités par une solution de métyrapone (afin de bloquer la libération des 11-hydroxy-corticostéroïdes), l'hypercapnie ne produit plus d'augmentation de la sérine et de la glutamine plasmatiques; d'autres modifications provoquées par le CO_2 chez le rat normal se trouvent atténuées par la métyrapone ; c'est le cas de la diminution de la tyrosine et du glutamate plasmatiques, ainsi que celle de la glycine intraglobulaire. Au contraire, l'alanine plasmatique est très fortement augmentée. Le niveau sanguin des acides aminés à chaîne ramifiée (valine, isoleucine, leucine) est abaissé par la métyrapone, que l'animal soit hypercapnique ou non.

9° - Les niveaux de l'azote α -aminé total dans le foie, le muscle et le rein ne montrent pas de changements appréciables, sous l'effet du CO_2 . Cependant la concentration tissulaire de quelques amino-acides libres se trouve modifiée. Dans le foie et le muscle on observe une hausse

significative de la thréonine et de la sérine. Dans le rein, la sérine est en augmentation, alors que le taux du glutamate diminue. On note pour ces composés une grande amplitude des variations individuelles, reflétant la complexité des réactions métaboliques ainsi que la diversité des phénomènes de libération et de captation selon les tissus considérés.

10° - La diversité des changements affectant le niveau sanguin des amino-acides, ainsi que l'apparition de nouvelles corrélations, montre que l'on a affaire à plusieurs processus métaboliques. Il convient de rejeter une explication fondée uniquement sur le ralentissement des synthèses protéiques. En effet, si l'on constate effectivement en hypercapnie une baisse des protéines circulantes, elle n'est pas en corrélation statistique avec la hausse des composés α -aminés libres totaux, et d'autre part le taux des amino-acides à chaîne ramifiée qui participent activement à la protidogénèse n'est pas modifié dans nos expériences.

11° - De la même manière, l'absence de variation importante de l'urée sanguine et des amino-acides qui participent au cycle de l'urée (ornithine, citrulline, arginine) paraît apporter la preuve que l'uréogénèse n'est pas le premier mécanisme touché par le CO_2 .

12° - Les changements les plus significatifs dûs à l'hypercapnie affectent des amino-acides dont il est connu que le métabolisme est contrôlé par des enzymes rapidement inductibles, et dont les liens avec la néoglycogénèse sont étroits : c'est le cas de l'alanine, de l'acide glutamique et de la tyrosine. Pour ces deux derniers composés, l'intervention des hormones corticosurréaliennes paraît prouvée par nos expériences.

En définitive l'influence de l'hypercapnie sur le métabolisme des amino-acides ne s'exerce donc pas seulement au niveau du rein, par l'hydrolyse de la glutamine fournissant de l'ammoniac nécessaire à l'excrétion des ions H^+ . Elle se manifeste d'abord en provoquant la libération à partir des tissus périphériques des composés α -aminés, au premier rang desquels il convient de placer l'alanine et la sérine. Cette mise en circulation s'accompagne d'une réduction des niveaux du glutamate et de la tyrosine circulants, et l'ensemble de ces phénomènes est à mettre en rapport avec une néoglycogénèse accrue.

ANNEXES

ANNEXE I

LES AMINO-ACIDES DU SANG, DU PLASMA ET DES HEMATIES
CHEZ LE RAT NORMAL, D'APRES LES DONNEES DE LA LITTERATURE

Les valeurs de l'amino-acidémie que nous obtenons chez le rat normal après 18 heures de diète hydrique sont en bon accord général avec les données publiées jusqu'ici dans la littérature; nous avons rassemblé ces données dans les tableaux suivants en uniformisant l'expression des résultats et en distinguant les résultats obtenus par la chromatographie sur colonne selon la technique de MOORE et STEIN et ceux qui ont été obtenus par d'autres techniques (chromatographie sur papier, dosages microbiologiques).

La plupart des auteurs se sont intéressés au plasma (tableau XXXII). Les déterminations concernant le sang total sont peu nombreuses (tableau XXXI) et nous n'en avons trouvé qu'une seule qui se rapporte aux hématies (tableau XXXIII).

CONDITIONS EXPERIMENTALESS a n gRéférence :

- 161 - PAWLAK et al. : animaux de 100 g nourris.
 162 - PAWLAK et al. : animaux de 100 g nourris.
 136 - MALATHI et al. : animaux de 40 g nourris.
 236 - WELLERS et al. : rats adultes .
 234 - WELLERS et al. : rats adultes mâles.

P l a s m a

- 189 - ROBERTS : animaux nourris.
 200 - SCHARFF et al. : animaux nourris.
 96 - HANKING et al. : animaux à jeun depuis 24 heures.
 97 - HERBERT et al. : animaux à jeun depuis 24 heures.
 201 - SCHARFF et al. : animaux nourris.
 228 - VANDERMEERS et al. : animaux nourris.
 184 - REHBERG et al. : animaux nourris.
 101 - JANICKI et al. : animaux anesthésiés (conditions non précisées)
 120 - LACY : animaux à jeun.
 41 - CHRISTOPHE et al. :
 1ère colonne : animaux nourris.
 2ème colonne : animaux à jeun
 110 - KERLY et al. : animaux à jeun depuis 20 heures.
 214 - STANA et al.
 1ère colonne : animaux à jeun depuis 15 h.
 2ème colonne : animaux nourris.
 163 - PENG et al. : animaux nourris.

H é m a t i e s

- 97 - HERBERT et al. : animaux à jeun depuis 24 heures

TABLEAU XXXI

Teneur du sang en composés α -aminés chez le Rat normal : données de la littérature (exprimées en μ moles par 100 ml de sang).
(voir les conditions expérimentales p. 126)

	161	162	136	236 *	234 **
	(8)	(8)	(7)	non cité	non cité
	2,7		$39,7 \pm 1,31$		
	21,5		$19,6 \pm 1,60$		
	53,4 (+ Ser)				
	40,3	6,7 à 63,9	$53,8 \pm 4,54$		$87,8 \pm 30,1$
	53,4 (+ Gln)		$57,1 \pm 5,14$		
	33,3		$42,3 \pm 3,33$		
	56,2		$56,4 \pm 1,80$		
	10,3		$24,6 \pm 0,95$		$10,0 \pm 2,9$
			$61,4 \pm 4,25$		$3,1 \pm 0,2$
	5,9		$13,7 \pm 0,81$	$10,4 \pm 3,85$	$3,4 \pm 0,4$
	5,3	3,8 à 6,9	$\left. \begin{array}{l} \\ 6,2 \pm 0,04 \end{array} \right\}$	$14,9 \pm 3,89$	$6,9 \pm 0,8$
	9,2	6,9 à 12,2		$10,8 \pm 7,02$	$9,7 \pm 1,1$
	5,5		$33,6 \pm 1,82$		
	6,7	4,2 à 6,1	$30,2 \pm 2,79$		$5,6 \pm 1,0$
	4,6				
	30,8	28,1 à 44,5	$54,1 \pm 2,40$	$62,9 \pm 9,86$	$49,5 \pm 4,1$
					$0,8 \pm 0,2$
	6,4		$34,3 \pm 2,00$		$4,3 \pm 0,3$
	13,8		$63,6 \pm 1,38$		$18,0 \pm 1,4$

* Ces résultats ont été obtenus par chromatographie sur papier.

** Ces résultats ont été obtenus par dosages microbiologiques.

TABLEAU XXXII

Teneur du plasma en composés α -aminés chez le Rat normal : données de la littérature
(exprimées en μ moles par 100 ml. de plasma)

(voir les conditions expérimentales p. 126)

	189	189	200	96	97
	(5)	(4)	(3)	(4)	10
	1,5 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,1	3,8		1,2 (1 -
	17,0 $\pm$ 1,9	25,7 $\pm$ 3,8	11,3		15,2 (9 - 2
	56,7 $\pm$ 3,6	62,2 $\pm$ 6,9			54,5 (44 - 6
	22,2 $\pm$ 1,5	24,0 $\pm$ 1,2	25,2	22,8 $\pm$ 1,3	23,7 (20 - 2
	26,7 $\pm$ 1,8	28,4 $\pm$ 1,9	53,2		23,1 (17 - 3
	40,0 $\pm$ 0,6	21,8 $\pm$ 1,9	27,8		44,7 (37 - 5
	9,1 $\pm$ 0,6	9,7 $\pm$ 0,6	8,7		5,3 (2 -
	49,3 $\pm$ 1,6	54,8 $\pm$ 3,8	40,9		32,3 (24 - 3
	15,2 $\pm$ 0,5	12,1 $\pm$ 0,7	18,8	15,7 $\pm$ 0,7	17,7 (11 - 2
	2,2 $\pm$ 0,3	2,4 $\pm$ 0,5	3,0		
	4,9 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,2	4,5	5,3 $\pm$ 0,3	9,1 (1 - 1
	7,5 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,1	8,8	7,7 $\pm$ 0,4	8,0 (7 -
	11,8 $\pm$ 0,5	8,2 $\pm$ 0,2	15,2	12,8 $\pm$ 0,3	15,5 (15 - 1
	7,8 $\pm$ 0,2	6,7 $\pm$ 0,2	7,3		9,2 (5 - 1
	5,0 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,1	7,6	5,2 $\pm$ 0,2	8,6 (8 -
	7,2 $\pm$ 0,8	7,4 $\pm$ 0,6	6,5		4,6 (1 -
	41,2 $\pm$ 1,5	55,5 $\pm$ 2,5	34,6	41,2 $\pm$ 1,5	40,6 (32 - 4
			6,9		6,5 (1 -
	6,5 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,2	7,3	6,5 $\pm$ 0,1	11,1 (1 - 1
	13,9 $\pm$ 0,5	12,3 $\pm$ 0,7	17,5	13,9 $\pm$ 0,5	16,1 (11 - 2
	6,9 $\pm$ 1,0	6,7 $\pm$ 0,8	35,6		
	473,5 $\pm$ 21,0	277,8 $\pm$ 18,9			

TABLEAU XXXII (suite)

Teneur du plasma en composés α - aminés chez le Rat normal : données de la littérature
(exprimées en μ moles par 100 ml. de plasma)

(voir les conditions expérimentales p. 126)

261.	201	201	201	228
n	3	4	3	(5 x 5)
sp.	3,7 $\pm$ 0,78	3,1 $\pm$ 0,51	5,1	3,5 $\pm$ 4,7
lu	19,4 $\pm$ 1,66	15,9 $\pm$ 1,75	15,3	15,9 $\pm$ 5,7
ln				92,3 $\pm$ 17,6
ar	41,8 $\pm$ 4,96	34,0 $\pm$ 3,19	41,5	43,3 $\pm$ 0,7
er	38,6 $\pm$ 2,42	37,4 $\pm$ 4,21	38,7	27,8 $\pm$ 1,9
ly	52,2 $\pm$ 6,19	39,2 $\pm$ 1,75	44,7	28,9 $\pm$ 6,2
itr	13,4 $\pm$ 1,43	8,5 $\pm$ 0,70	15,1	
la	52,9 $\pm$ 1,67	44,5 $\pm$ 1,89	49,5	50,8 $\pm$ 15,6
al	19,1 $\pm$ 1,56	20,4 $\pm$ 0,80	22,6	22,3 $\pm$ 3,0
ys	0,95 $\pm$ 0,56	2,4 $\pm$ 0,06	4,5	1,9 $\pm$ 0,7
et	3,8 $\pm$ 0,53	6,0 $\pm$ 0,24	5,9	9,0 $\pm$ 2,4
le	10,6 $\pm$ 1,46	9,1 $\pm$ 0,56	12,1	10,5 $\pm$ 1,3
eu	15,3 $\pm$ 1,52	17,3 $\pm$ 0,69	20,4	15,2 $\pm$ 2,7
yr	11,1 $\pm$ 2,35	10,2 $\pm$ 1,05	10,2	10,0 $\pm$ 2,8
he	6,8 $\pm$ 0,61	7,9 $\pm$ 0,21	7,0	5,8 $\pm$ 0,9
rn	9,5 $\pm$ 1,47	7,3 $\pm$ 0,38	9,6	5,7 $\pm$ 3,4
ys	43,1 $\pm$ 6,67	47,6 $\pm$ 4,21	50,8	59,6 $\pm$ 5,2
rp	7,7 $\pm$ 1,24	10,7 $\pm$ 0,58	9,4	
is	10,2 $\pm$ 0,29	8,0 $\pm$ 0,81	9,3	6,5 $\pm$ 1,1
rg	22,9 $\pm$ 1,85	27,2 $\pm$ 3,05	22,2	13,4 $\pm$ 2,5
amr	31,0 $\pm$ 3,52	47,7 $\pm$ 5,22	42,3	26,9 $\pm$ 2,5
rée				

TABLEAU XXXII (suite)

Teneur du plasma en composés α - aminés chez le Rat normal : données de la littérature
(exprimées en μ moles par 100 ml. de plasma)

(voir les conditions expérimentales p. 126)

Réf.	184	184	101	120	41	41	110
	(1 x 6)	(1 x 6)	4	(9)	(5)	(5)	(7)
p					$2,7 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,3$	2,9
u	70,69	39,31		$7,4 \pm 0,6$	$12,4 \pm 0,9$	$14,3 \pm 1,5$	
n			58 ± 3		$102,9 \pm 9,2$	$108,9 \pm 2,5$	
r	42,27	28,91		$80,3 \pm 1,4$			
r	53,81	36,57		$22,4 \pm 1,2$	$41,9 \pm 2,3$	$37,4 \pm 2,9$	
y	69,20	53,07		$26,3 \pm 1,6$	$59,5 \pm 2,4$	$64,3 \pm 6,2$	24,6
tr				$2,2 \pm 0,5$			
a	161,57	66,20		$33,9 \pm 2,4$	$80 \pm 6,7$	$45,9 \pm 5,8$	64,5
l				$16,8 \pm 1,1$			
s							
t				$1,7 \pm 0,3$			
e				$8,0 \pm 0,6$			
u	34,58	24,66		$13,4 \pm 0,7$			
r				5,5			
ae	11,15	8,48		$6,2 \pm 0,4$			
rn				$3,1 \pm 0,5$			
rs	48,70	48,63		$36,9 \pm 1,7$	$41,3 \pm 5,4$	$39,1 \pm 1,4$	
p							
s	6,65	7,42		$4,5 \pm 0,3$			
g				$11,6 \pm 0,6$	$28,9 \pm 1,8$	$17,6 \pm 1,8$	
aur							
ée							

TABLEAU XXXII (fin)

Teneur du plasma en composés α - aminés chez le Rat normal : données de la littérature
(exprimées en μ moles par 100 ml. de plasma)

(voir les conditions expérimentales p. 126)

	194	214	214	163
	(5 x 5)	(non signalé)	(non signalé)	(5)
sp	1,2			
lu	9,0			14,5
ln	52,1			
hr	16,7	45,8	56,8	110,1
er	19,2			40,0
ly	33,0			25,6
tr	6,6			
la	29,6			81,5
al	12,3	13,2	16,3	15,6
ys	1,4			
ot	3,7	5,6	8,2	8,5
le	6,7	8,6	10,9	6,9
eu	9,6	13,9	14,8	12,5
yr	4,9	10,2	10,0	8,9
he	4,9	7,1	7,2	6,9
rn	3,0			
ys	26,6	47,4	52,5	39,0
rp	0,4			
is	4,5	6,6	10,1	10,1
rg	7,5	11,3	12,9	8,9
aur	13,0			
ée	295,0			

TABLEAU XXXIII

Teneurs des hématies en composés α -aminés chez le Rat normal : données de la littérature
(exprimées en μ moles par 100 ml. d'hématies)

(voir les conditions expérimentales p. 126)

Ref 97

n (7)

Asp	0,7 (0,5 - 1)
Glu	20,3 (15 - 25)
Gln	25,6 (20 - 32)
Thr	12,9 (11 - 14)
Ser	18,8 (18 - 19)
Gly	43,8 (37 - 53)
Citr	2,4 (2 - 3)
Ala	24,3 (21 - 26)
Val	9,0 (8 - 9)
Cys	
Met	5,4 (5 - 6)
Ile	7,5 (6 - 10)
Leu	9,7 (7 - 14)
Tyr	6,4 (6 - 8)
Phe	6,2 (6 - 8)
Orn	3,3 (2 - 5)
Lys	21,5 (20 - 23)
Trp	
His	6,6 (5 - 8)
Arg	11,3 (11 - 12)
four	
urée	

ANNEXE II

DONNEES DE LA LITTERATURE RELATIVES AUX EFFETS DE DIVERSES HORMONES
SUR LES COMPOSES α -AMINES DU PLASMA CHEZ LE RAT

Comme nous l'avons indiqué , pp. 115-116, l'hyperaminoacidémie a été constatée chez le rat dans trois conditions expérimentales faisant intervenir des hormones : d'une part l'insuffisance pancréatique (consécutive à la pancréatectomie partielle ou à l'administration de sérum antiinsuline), d'autre part l'administration de corticostéroïdes ou de thyroxine . Nous rapportons dans le tableau ci-après les résultats expérimentaux détaillés publiés par les auteurs.

TABLEAU XXXIV

Effets de diverses conditions expérimentales sur les acides aminés du plasma du rat
(résultats exprimés en μ moles / 100 ml. de plasma)

- 1 - d'après SCHARFF et WOOL (201) influence de la pancréatectomie partielle (durée : 1 mois)
2 - " influence d'un sérum anti-insuline (1,5 ml. de sérum à 1 U par ml. durée : 6 heures).

nombre animaux	1 pancréatectomie partielle			2 Sérum anti-insuline		
	T (4)	P (4)	variation %	T (2)	AI (2)	variation %
p	3,1	2,1	- 32	5,1	5,5	+ 8
u	15,9	12,4	- 22	15,3	17,5	+ 14
n						
r	34,0	66,4	+ 95	41,5	46,4	+ 12
r	36,4	52,8	+ 45	38,7	40,9	+ 6
y	39,2	40,9	+ 4	44,7	52,6	+ 18
r	8,5	25,1	+ 36	15,1	13,8	- 11
a	44,5	76,0	+ 71	49,5	60,9	+ 23
l	20,4	46,5	+ 124	22,6	28,6	+ 27
s	2,4	6,5	+ 170	4,5	3,8	- 15
t	6,0	7,6	+ 27	5,9	6,0	+ 1
e	9,1	18,4	+ 102	12,1	13,7	+ 13
u	17,3	37,2	+ 115	20,4	25,0	+ 23
r	10,2	6,5	- 36	10,2	8,8	- 14
e	7,9	8,0	- 1	7,0	6,9	- 1
n	7,3	12,9	+ 77	9,6	11,0	+ 15
s	47,6	44,7	- 6	50,8	53,8	+ 6
p	10,7	8,3	+ 29	9,4	6,4	- 32
s	8,0	8,8	+ 10	9,3	11,4	+ 22
g	27,2	35,3	+ 30	22,2	19,5	- 12
ur	47,7	53,7	+ 12	42,3	56,1	+ 33

TABLEAU XXXIV (suite)

Effets de diverses conditions expérimentales sur les composés α - aminés du plasma du rat
(résultats exprimés en μ moles / 100 ml. de plasma)

- 3 - d'après RYAN et CARVER (194) influence de l'hydrocortisone (5 mg / 100 g. de poids ;
durée : 24 heures ; l'astérisque désigne les différences significatives)
- 4 - d'après BETHEIL et al (19), influence de la cortisone (1 mg / 100 g. de poids ; durée : 4 heures)

nombre d'animaux	3 Hydrocortisone			4 Cortisone		
	T (5 x 5)	Hydrocort. (5 x 5)	Variation (%)	T (2 x 2)	Cortisone (2 x 2)	ariation (%)
asp	1,2	1,8 *	+ 50	1,2	1,5	+ 25%
lu	9,0	7,0 *	- 22	11,4	18,0	+ 57,9
ln	52,1	67,2	+ 29			
hr	16,7	26,7 *	+ 60	27,3	28,4	+ 4
er	19,2	27,4 *	+ 43	16,9	15,4	- 9
ly	33,0	46,6 *	+ 41	32,2	32,9	+ 2,2
itr				8,5		
ala	29,6	46,8 *	+ 58	25,1	25,6	+ 6
al	12,3	15,4 *	+ 25	18,8	22,9	+ 21,8
ys	1,4	1,7	+ 21			
eth	3,7	4,5	+ 21			
le	6,7	8,8 *	+ 31	9,1	11,4	+ 15,2
eu	9,6	13,1 *	+ 36	17,0	18,1	+ 6,5
tyr	4,9	6,2 *	+ 26	6,9	5,0	- 28
phe	4,9	6,8 *	+ 39	7,1	9,8	+ 38
orn	3,0	3,2	+ 6			
ys	26,6	34,1 *	+ 28	33,6	25,8	- 23,2
trp						
his	4,5	5,3	+ 18	7,4	6,4	- 13,5
arg	7,5	5,9	+ 21			
aur	13,0	17,8 *	+ 37			

TABLEAU XXXIV (suite)

Effets de diverses conditions expérimentales sur les composés α - aminés du plasma du rat (résultats exprimés en μ moles / 100 ml de plasma)

- 5 - d'après WELLERS et al (236 et 237) , influence de la thyroxine (administration par sonde gastrique, en quatre fois, à des intervalles de 2 à 3 j, de 7,5 à 21 mg d'hormone, suivant le poids des animaux (220 à 290 g.)

Les moyennes des animaux témoins sont suivies de l'erreur statistique calculée avec le seuil de sécurité de 0,05.

L'astérisque désigne les différences significatives.

nombre d'animaux	T non cité	Thyroxine non cité	Variation %
Asp			
Glu			
Gln			
Thr	87,82 $\pm$ 30,17	86,68	- 1,3
Ser			
Gly			
Citr			
Ala			
Val	10,00 $\pm$ 2,91	13,67	+36,7
Cys	3,08 $\pm$ 0,29	5,20	+ 68,9 *
Met	3,37 $\pm$ 0,44	2,52	- 25,3 *
Ile	6,95 $\pm$ 0,84	12,83	+ 84,6 *
Leu	9,69 $\pm$ 1,14	13,20	+ 36,2 *
Tyr			
Phe	5,64 $\pm$ 1,09	4,79	- 15,1
Orn			
Lys	49,52 $\pm$ 4,18	68,73	+ 38,8 *
Trp	0,77 $\pm$ 0,29	0,93	+ 20,9
His	4,26 $\pm$ 0,39	8,90	+109,0 *
Arg	17,99 $\pm$ 1,44	19,66	+ 9,3
Taur			

ANNEXE III

NIVEAU DES AMINO-ACIDES DU PLASMA AU COURS DE L'ACIDOSE
OU DE L'ALCALOSE CHRONIQUE, D'APRES LES RESULTATS DE PITTS
ET SES COLLABORATEURS

En 1963, PITTS et ses collaborateurs ont publié des résultats expérimentaux relatifs aux effets de l'acidose ou de l'alcalose sur le prélèvement des amino-acides sanguins et plasmatiques par le rein, chez le chien. L'acidose a été provoquée en faisant ingérer aux animaux $\text{NH}_4 \text{Cl}$ (10 g par jour pendant 3 jours) ; l'alcalose a été provoquée en administrant aux animaux NaHCO_3 . Les déterminations des amino-acides présents dans le sang artériel afférent au rein et dans le sang veineux efférent ont été réalisées au moyen d'un analyseur Beckman 120. Nous avons réuni dans les tableaux ci-après les résultats disséminés dans deux des publications de PITTS (175, 209), et nous avons nous-même calculé la signification des différences observées par le test de STUDENT-FISHER, en partant des erreurs standards de la moyenne indiquées par ces auteurs.

La comparaison des niveaux des acides aminés en acidose et en alcalose fait ainsi apparaître une augmentation de la glutamine, de l'alanine, de la thréonine, ainsi que de la lysine. Nous avons rapproché ces résultats de nos propres observations (cf p. 116).

TABLEAU XXXV

Niveau des Amino - acides du plasma chez le chien en acidose ou en alcalose chronique
d'après SHALHOUB et al. (209). tableaux 1 et 2 - p. 182)
Résultats exprimés en μ Moles /100 ml et suivis de s_M

	Alcalose	Acidose	différence	t
	$\bar{x} \pm s_M$	$\bar{x} \pm s_M$		
ro	(15) 7,9 $\pm$ 2,8	(20) 11,5 $\pm$ 4,80	+ 3,6	
sp	(13) 0,5 $\pm$ 0,3	(18) 0,8 $\pm$ 0,4	+ 0,3	
lu	(15) 1,9 $\pm$ 0,7	(19) 2,4 $\pm$ 1,0	+ 0,5	
ln	(15) 38,3 $\pm$ 6,9	(20) 45,0 $\pm$ 9,30	+ 6,7	2,84
ly	(15) 12,5 $\pm$ 2,9	(20) 16,9 $\pm$ 4,6	+ 4,4	1,35
la	(15) 18,7 $\pm$ 6,9	(20) 27,8 $\pm$ 12,0	+ 9,1	3,45
hr	(15) 14,5 $\pm$ 9,2	(20) 22,4 $\pm$ 11,3	+ 6,9	3,55
er	(15) 9,3 $\pm$ 2,9	(20) 14,2 $\pm$ 5,0	+ 4,9	1,44
al	(15) 12,9 $\pm$ 3,8	(20) 14,1 $\pm$ 4,7	+ 1,2	
le	(15) 4,1 $\pm$ 1,4	(20) 3,8 $\pm$ 1,6	+ 0,3	
eu	(15) 9,0 $\pm$ 3,1	(20) 8,5 $\pm$ 3,3	+ 0,5	
et	(15) 2,7 $\pm$ 1,2	(20) 3,4 $\pm$ 1,7	+ 0,7	
ys	(13) 2,0 $\pm$ 1,4	(17) 2,9 $\pm$ 2,0	+ 0,9	
yr	(15) 1,9 $\pm$ 0,5	(20) 1,9 $\pm$ 0,8	0	
he	(14) 4,2 $\pm$ 1,6	(19) 3,6 $\pm$ 1,7	- 0,6	
ys	(14) 10,0 $\pm$ 4,10	(18) 12,9 $\pm$ 6,1	+ 2,9	1,96
is	(14) 5,4 $\pm$ 1,6	(18) 8,0 $\pm$ 2,6	+ 2,6	0,82
rp	(7) 7,0 $\pm$ 1,1	(9) 7,0 $\pm$ 1,5		
rn	(14) 1,4 $\pm$ 1,1	(18) 1,6 $\pm$ 0,7		
itr	(14) 3,0 $\pm$ 1,0	(19) 3,4 $\pm$ 1,0	+ 0,4	
rg	(13) 5,0 $\pm$ 2,3	(16) 7,7 $\pm$ 2,8	+ 2,7	0,967
Méthyl-His	(6) 2,1 $\pm$ 0,5	(8) 1,7 $\pm$ 0,5	+ 0,4	
AAB	(15) 1,3 $\pm$ 0,6	(20) 1,7 $\pm$ 1		

TABLEAU XXXVI

Niveau des Amino-Acides du sang et du plasma chez un même chien
en acidose ou en alcalose chronique d'après PITTS et al. , (175) tableau I p. 198
résultats exprimés en μ M/100 ml.

	Plasma			Sang		
	Alcalose	Acidose	Δ	Alcalose	Acidose	Δ
Pro	10,9	18,3	+ 7,4	14,0	20,3	+ 6,3
Glu	1,3	3,10	+ 1,8	6,3	6,7	+ 0,4
Gln	49,0	63,3	+ 14,3	54,1	67,5	+ 13,4
Gly	17,7	27,2	+ 9,5	17,2	26,2	+ 9,0
Ala	29,3	46,1	+ 16,8	29,9	43,6	+ 13,7
Thr	8,6	11,9	+ 3,3	11,4	14,9	+ 3,5
Sér	11,3	17,2	+ 5,9	15,3	19,9	+ 4,6
Val	11,4	12,0	+ 0,6	11,1	12,4	+ 1,3
Ile	2,1	2,6	+ 0,5	2,0	2,6	+ 0,6
Leu	6,8	6,1	- 0,4	6,0	5,8	- 0,2
Met	1,2	3,0	+ 1,8	2,4	2,4	0
Tyr	1,6	2,0	+ 0,4	4,6	5,3	+ 0,7
Phe	2,8	2,6	- 0,2	2,6	2,6	0
Lys	7,1	9,2	+ 2,1	20,5	22,4	+ 1,9
His	4,6	5,9	+ 1,3	2,4	7,1	+ 4,7
Trp	7,0	5,4	- 1,6	5,6	4,0	- 1,6
Orn	0,8	1,3	+ 0,5	2,6	2,7	+ 0,1
Citr	2,7	4,0	+ 1,3	4,0	3,8	- 0,2
Arg	5,5	7,7	+ 2,2	16,4	17,8	+ 1,4
AMB	0,7	1,3	+ 0,6	0,7	1,2	+ 0,5
Somme	182,4	250,5		229,1	289,2	

ANNEXE IV

COMPOSITION DE L'ALIMENT COMPOSE COMPLET POUR RAT (S. A. R. B.)

1° - Composition

Maïs, blé, orge
Graisses animales
Sucre
Issues de blé
Soya
Farine de viande stérilisée
Composé minéral vitaminisé

2° - Teneurs

Humidité	14,0 pour 100
Cellulose	6,0 pour 100
Matières minérales	6,5 "
Matières grasses	3,0 "
Matières protéiques	16,5 "

3° - Teneur en vitamines par kg d'aliment

Vitamine A	10.000	U I
D	5.600	U I
E	1,70	mg
K	0,35	mg
B _I	12,00	mg
B ₂	1,47	mg
B ₃	1,00	mg
B ₆	0,20	mg
B ₁₂	0,002	mg
PP	5,00	mg

4° - Supplément en méthionine

1 g de méthionine par kg d'aliment .

ANNEXE V

ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

La signification statistique de nos résultats a été étudiée au moyen du test t de STUDENT-FISHER appliqué aux différences entre les moyennes, après analyse de la variance. Les valeurs t ainsi obtenues et la probabilité de l'hypothèse nulle sont rapportées dans les tableaux ci-après (tableaux XXXVII à XLVII).

TABLEAU XXXVII

*Influence de l'hypercapnie sur la répartition de l'azote α -aminé du sang :
écart réduit (test t) et probabilité de l'hypothèse nulle*

	Durée de l'expérience	Témoins	30 minutes	1 heure	2 heures	4 heures
Sang	30 mn	2,83 ($\geq 0,001$)				
	1 h	2,32 ($\geq 0,02$)	0,587 ($\geq 0,50$)			
	2 h	1,897 ($\geq 0,05$)	1,076 ($\geq 0,20$)	0,491 ($\geq 0,60$)		
	4 h	1,670 ($\geq 0,10$)	1,087 ($\geq 0,20$)	0,541 ($\geq 0,50$)	0,086 ($\geq 0,90$)	
	6 h	1,401 ($\geq 0,10$)	1,339 ($\geq 0,10$)	0,802 ($\geq 0,40$)	0,355 ($\geq 0,70$)	0,251 ($\geq 0,80$)
Plasma.....	30 mn	1,709 ($\geq 0,05$)				
	1 h	0,886 ($\geq 0,30$)	2,280 ($\geq 0,02$)			
	2 h	0,272 ($\geq 0,70$)	1,372 ($\geq 0,10$)	1,067 ($\geq 0,20$)		
	4 h	0,952 ($\geq 0,30$)	2,391 ($\geq 0,02$)	0,022 ($\geq 0,90$)	1,137 ($\geq 0,20$)	
	6 h	0,320 ($\geq 0,70$)	1,783 ($\geq 0,05$)	0,497 ($\geq 0,60$)	0,535 ($\geq 0,50$)	0,539 ($\geq 0,50$)
Hématies.....	30 mn	2,381 ($\geq 0,02$)				
	1 h	4,750 ($\geq 0,001$)	0,550 ($\geq 0,50$)			
	2 h	1,169 ($\geq 0,20$)	0,92' ($\geq 0,30$)	1,715 ($\geq 0,05$)		
	4 h	2,772 ($\geq 0,001$)	0,271 ($\geq 0,70$)	0,119 ($\geq 0,90$)	1,312 ($\geq 0,10$)	
	6 h	1,517 ($\geq 0,10$)	0,599 ($\geq 0,50$)	1,149 ($\geq 0,20$)	0,057 ($\geq 0,90$)	0,870 ($\geq 0,30$)

TABLEAU XXXVIII

*Normoxie : répartition de l'azote α -aminé du sang :
écart réduit (test t) et probabilité de l'hypothèse nulle*

	Durée de l'expérience	Témoins	1 heure	2 heures	4 heures
Sang	1 h	0,129 ($\geq 0,80$)			
	2 h	1,193 ($\geq 0,20$)	1,050 ($\geq 0,20$)		
	4 h	0,943 ($\geq 0,30$)	0,805 ($\geq 0,40$)	0,245 ($\geq 0,80$)	
	6 h	0,505 ($\geq 0,70$)	0,431 ($\geq 0,60$)	0,612 ($\geq 0,50$)	0,396 ($\geq 0,60$)
Plasma.....	1 h	0,010 ($\geq 0,90$)			
	2 h		0,019 ($\geq 0,90$)		
	4 h	0,266 ($\geq 0,70$)	0,243 ($\geq 0,80$)	0,290 ($\geq 0,70$)	
	6 h	0,169 ($\geq 0,80$)	0,150 ($\geq 0,80$)	0,170 ($\geq 0,80$)	0,105 ($\geq 0,90$)
Hématies.....	1 h	0,272 ($\geq 0,70$)			
	2 h	1,382 ($\geq 0,10$)	1,071 ($\geq 0,20$)		
	h	0,764 ($\geq 0,40$)	0,724 ($\geq 0,40$)	0,368 ($\geq 0,70$)	
	6 h	0,560 ($\geq 0,50$)	0,260 ($\geq 0,70$)	0,837 ($\geq 0,40$)	0,475 ($\geq 0,60$)

TABLEAU XXXIX

Influence de l'hypoxie sur l'azote α -aminé du sang :
écart réduit (test t) et probabilité de l'hypothèse nulle

	Durée de l'expérience	Témoins	30 minutes	1 heure	2 heures	4 heures
Sang	30 mn	0,507 (> 0,90)				
	1 h	2,208 (< 0,05)	2,517 (< 0,02)			
	2 h	0,706 (> 0,40)	1,099 (> 0,20)	1,274 (> 0,20)		
	4 h	3,326 (< 0,01)	3,562 (< 0,001)	1,011 (> 0,30)	2,246 (< 0,05)	
	6 h	3,934 (< 0,001)	4,125 (< 0,001)	0,423 (> 0,60)	2,719 (< 0,01)	0,423 (> 0,60)
Plasma	30 mn	0,657 (> 0,50)				
	1 h	1,537 (> 0,10)	2,024 (< 0,05)			
	2 h	0,533 (> 0,50)	0,115 (> 0,90)	1,909 (> 0,05)		
	4 h	1,102 (> 0,20)	1,622 (> 0,10)	0,402 (> 0,60)	1,507 (> 0,10)	
	6 h	0,150 (> 0,80)	0,521 (> 0,60)	1,674 (> 0,10)	0,397 (> 0,60)	1,238 (> 0,20)
Hématies	30 mn	0,014 (> 0,90)				
	1 h	0,894 (> 0,30)	0,860 (> 0,30)			
	2 h	0,860 (> 0,30)	0,828 (> 0,30)	0,031 (> 0,90)		
	4 h	2,009 (> 0,05)	1,916 (> 0,05)	1,017 (> 0,30)	1,049 (> 0,30)	
	6 h	1,872 (> 0,05)	1,786 (> 0,05)	0,891 (> 0,30)	0,923 (> 0,30)	0,126 (= 0,90)

TABLEAU XL

Influence de l'asphyxie (hypoxie hypercarbique) sur l'azote α -aminé du sang :
écart réduit (test t) et probabilité de l'hypothèse nulle

	Durée de l'expérience	Témoins	30 minutes	1 heure	2 heures	4 heures
Sang	30 mn	0,191 (> 0,80)				
	1 h	2,359 (< 0,05)	2,421 (< 0,05)			
	2 h	2,673 (< 0,02)	2,719 (< 0,01)	0,298 (> 0,70)		
	4 h	1,614 (> 0,10)	1,714 (> 0,05)	0,707 (> 0,40)	1,005 (> 0,30)	
	6 h	2,667 (< 0,02)	2,348 (< 0,05)	4,770 (< 0,01)	5,068 (< 0,01)	4,063 (< 0,01)
Plasma	30 mn	1,157 (> 0,20)				
	1 h	0,635 (> 0,50)	0,510 (> 0,60)			
	2 h	0,081 (> 0,90)	0,082 (> 0,90)	0,499 (> 0,60)		
	4 h	0,551 (> 0,50)	0,553 (> 0,50)	0,058 (> 0,90)	0,428 (> 0,60)	
	6 h	2,140 (> 0,05)	2,920 (< 0,01)	2,570 (< 0,02)	1,990 (> 0,05)	2,400 (< 0,05)
Hématies	30 mn	0,474 (> 0,60)				
	1 h	2,066 (< 0,05)	1,547 (> 0,10)			
	2 h	2,251 (< 0,05)	1,727 (> 0,05)	0,180 (> 0,80)		
	4 h	1,471 (> 0,10)	0,969 (> 0,30)	0,578 (> 0,50)	0,758 (> 0,40)	
	6 h	2,162 (< 0,05)	2,551 (< 0,02)	4,045 (< 0,001)	4,218 (< 0,001)	3,486 (< 0,01)

TABLEAU XLI

*Influence de l'hypercapnie sur l'azote α -aminé du sang
écart réduit (test t) et probabilité de l'hypothèse nulle*

	Animaux nourris		
	$F_{I_{CO_2}}$	0,00	0,10
Azote aminé du sang.....	0,10	0,138($\leq$ 0,80)	
	0,20	1,620($>$ 0,10)	1,934($\leq$ 0,05)
Azote aminé du plasma.....	0,10	1,218($\leq$ 0,20)	
	0,20	0,337($>$ 0,70)	1,597($\leq$ 0,10)
Azote aminé des hématies.....	0,10	1,448($\leq$ 0,10)	
	0,20	0,085($>$ 0,90)	1,501($\leq$ 0,10)
	Animaux à jeun		
	$F_{I_{CO_2}}$	0,00	0,10
Azote aminé du sang.....	0,10	6,444($\leq$ 0,001)	
	0,20	2,207($\leq$ 0,05)	3,581($\leq$ 0,01)
Azote aminé du plasma.....	0,10	0,109($\leq$ 0,90)	
	0,20	0,221($\leq$ 0,80)	0,118($\leq$ 0,90)
Azote aminé des hématies.....	0,10	6,372($\leq$ 0,001)	
	0,20	1,935($\leq$ 0,05)	3,874($\leq$ 0,01)

TABLEAU XLII

Influence du CO₂ sur les composés α -aminés du sang du RAT traité par le tartrate de sodium : signification statistique des différences (test t de STUDENT - FISCHER après analyse de la variance)

		Valeur de l'écart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle (entre parenthèses)							
V _r		Tartr. + CO ₂		Tartr. + CO ₂		Tartr. + CO ₂		Tartr.	
		CO ₂		Tartr.		Normaux		Normaux.	
		t	p	t	p	t	p	t	p
SSG	28	3,14 *	(< 0,01)			2,77 *	(< 0,01)		
	29	1,75	(> 0,05)	0,81	(> 0,40)	0,58	(> 0,50)	0,17	(> 0,80)
	30	1,13	(> 0,20)	1,83	(> 0,05)	0,30	(> 0,70)	2,06 *	(< 0,05)
	28							2,64 *	(< 0,02)
	31	1,09	(> 0,20)	1,43	(> 0,10)	0,09	(> 0,90)	1,77	(> 0,05)
	29	2,22 *	(< 0,05)	4,23 *	(< 0,001)	3,56 *	(< 0,01)	1,74	(> 0,05)
	29	0,19	(> 0,80)	0,38	(> 0,70)	0,13	(> 0,90)	0,22	(> 0,80)
	27	0,58	(> 0,50)	0,12	(> 0,90)	1,61	(> 0,10)	1,77	(> 0,05)
	28	0,08	(> 0,90)	0,61	(> 0,50)	0,94	(> 0,30)	1,70	(> 0,05)
	28	0,37	(> 0,70)	1,35	(> 0,10)	0,27	(> 0,70)	1,95	(> 0,05)
	26	0,13	(> 0,90)	2,47 *	(< 0,05)	0,43	(> 0,60)	2,56 *	(< 0,02)
	26	3,07 *	(< 0,01)	2,62 *	(< 0,02)	2,16 *	(< 0,05)	1,44	(> 0,10)
	27							1,55	(> 0,10)
	26							2,15 *	(< 0,05)
	24							0,57	(> 0,50)
	27							0,50	(> 0,60)
r	28	0,98	(> 0,30)	0,93	(> 0,30)	0,28	(> 0,70)	0,89	(> 0,30)

Le nombre des degrés de liberté a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque

TABLEAU XLIII

Variations des composés α - aminés du plasma du Rat traité par le tartrate de sodium : signification statistique des différences (test t de STUDENT - FISCHER après analyse de la variance)

		Valeur de l'écart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle(entre parenthèses)			
	V_R	Tartr + CO ₂ / CO ₂		Tartr + CO ₂ / Normaux	
		t	p	t	p
Glu	25	2,15 *	(< 0,05)	0,14	(> 0,80)
Gln	25	0,38	(> 0,70)	0,18	(> 0,80)
Thr	28	2,33 *	(< 0,05)	2,17 *	(< 0,05)
Ser	28	6,16 *	(< 0,001)	0,79	(> 0,40)
Gly	27	1,27	(> 0,20)	1,90	(> 0,05)
Ala	31	0,73	(> 0,40)	2,43 *	(< 0,05)
Val	23	0,31	(> 0,70)	0,12	(> 0,90)
Met	23	0,71	(> 0,40)	0,76	(> 0,40)
Ile	25	0,53	(> 0,60)	0,77	(> 0,40)
Leu	24	0,75	(> 0,40)	0,80	(> 0,40)
Tyr	24	0,16	(> 0,80)	2,35 *	(< 0,05)
Phe	24	0,23	(> 0,80)	1,69	(> 0,10)
Orn	17				
Lys	21				
His	21				
Arg	16				
Taur	28	1,27	(> 0,20)	0,22	(> 0,80)

Le nombre des degrés de liberté a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque.

TABLEAU XLIV

Variations des composés α - aminés des hématies du Rat traité par le tartrate de sodium : signification statistique des différences (test t de STUDENT - FISCHER après analyse de la variance)

V _R	Valeur de l'écart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle (entre parenthèses)			
	Tartr + CO ₂ / CO ₂		Tartr + CO ₂ / Normaux	
	t	p	t	p
20	1,79	(> 0,05)	0,74	(> 0,40)
18				
20	2,28 *	(< 0,05)	0,55	(> 0,50)
18	3,48 *	(< 0,01)	3,70 *	(< 0,01)
15	0,01	(> 0,90)	0,51	(> 0,60)
12	0,33	(> 0,70)	0,96	(> 0,30)
17	0,17	(> 0,80)	0,04	(> 0,90)
17	0,51	(> 0,60)	0,83	(> 0,40)
16	0,78	(> 0,40)	0,66	(> 0,50)
15	2,71 *	(< 0,02)	3,30 *	(< 0,01)
12				
10				
17	2,79 *	(< 0,02)	1,47	(> 0,10)

Le nombre des degrés de liberté a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque.

TABLEAU XLV

Influence du CO₂ sur les composés aminés du sang du Rat traité par la métyrapone : signification statistique des différences (test t de STUDENT - FISCHER après analyse de la variance).

Valeur de l'écart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle (entre parenthèse)

	v _R	Méty + CO ₂ CO ₂		Méty + CO ₂ Méty		Méty + CO ₂ Tartr. + CO ₂		Méty + CO ₂ Normaux		Méty Normaux	
		t	p	t	p	t	p	t	p	t	p
Glu											
GSSG	28	1,91	(> 0,05)	0,62	(> 0,50)	1,26	(> 0,20)	1,45	(> 0,10)	0,88	(> 0,05)
Gln	29	0,70	(> 0,40)	0,77	(> 0,40)	0,84	(> 0,40)	0,45	(> 0,60)	1,51	(> 0,05)
Thr	30	0,21	(> 0,80)	0,24	(> 0,80)	0,84	(> 0,40)	0,76	(> 0,40)	1,18	(> 0,05)
Ser	28	1,22	(> 0,20)	0,30	(> 0,70)			0,66	(> 0,50)	1,14	(> 0,05)
Gly	31	0,49	(> 0,60)	0,05	(> 0,90)	0,71	(> 0,40)	0,64	(> 0,50)	0,68	(> 0,05)
Ala	29	2,98 *	(< 0,01)	5,81 *	(< 0,001)	0,42	(> 0,60)	4,52 *	(< 0,001)	2,19 *	(< 0,01)
Val	29	1,21	(> 0,20)	0,19	(> 0,80)	1,14	(> 0,20)	1,30	(> 0,20)	1,26	(> 0,05)
Met	27	0,33	(> 0,70)	0,11	(> 0,90)	0,78	(> 0,40)	0,77	(> 0,40)	0,99	(> 0,05)
Ile	28	1,29	(> 0,20)	0,25	(> 0,80)	0,95	(> 0,30)	2,29 *	(> 0,05)	2,94 *	(< 0,01)
Leu	28	0,79	(> 0,40)	0,24	(> 0,80)	0,95	(> 0,30)	1,54	(> 0,10)	2,07 *	(< 0,05)
Tyr	26	4,05 *	(< 0,001)	3,34 *	(< 0,01)	3,36 *	(< 0,01)	3,72 *	(< 0,001)	0,22	(> 0,05)
Phe	26	0,11	(> 0,90)	0,37	(> 0,70)	2,64 *	(< 0,02)	1,46	(> 0,10)	1,23	(> 0,05)
Orn	27	1,29	(> 0,20)	0,26	(> 0,80)			0,49	(> 0,60)	0,24	(> 0,05)
Lys	26	1,61	(> 0,10)	1,05	(> 0,30)			1,36	(> 0,10)	2,83 *	(< 0,01)
His	24	0,08	(> 0,90)	0,35	(> 0,70)			0,29	(> 0,70)	0,44	(> 0,05)
Arg	27	0,66	(> 0,50)	1,18	(> 0,20)			0,65	(> 0,50)	2,19 *	(< 0,05)
Taur	28	0,27	(> 0,70)	0,57	(> 0,50)	0,66	(> 0,50)	0,55	(> 0,50)	0,10	(> 0,05)

Le nombre des degrés de liberté (v_R) a été calculé d'après l'effectif des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astrisque.

TABLEAU XLVI

Influence du CO_2 sur les composés α -aminés du plasma du Rat traité par la métyrapone : signification statistique des différences (test t de STUDENT - FISCHER après analyse de la variance).

ν_A	Valeur de l'écart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle (entre parenthèses)									
	Méty + CO_2		Méty + CO_2		Méty + CO_2		Méty + CO_2		Méty	
	CO_2		Méty		Tartr. + CO_2		Normaux		Normaux	
	t	p	t	p	t	p	t	p	t	p
25	1,24	(> 0,20)	0,13	(> 0,90)	0,76	(> 0,40)	0,81	(> 0,40)	0,98	(> 0,30)
25	0,82	(> 0,40)	0,54	(> 0,50)	0,36	(> 0,70)	0,27	(> 0,70)	0,84	(> 0,40)
28	0,33	(> 0,70)	1,93	(> 0,05)	0,47	(> 0,60)	0,79	(> 0,40)	1,98	(> 0,05)
28	1,78	(> 0,10)	1,08	(> 0,20)	0,72	(> 0,40)	0,21	(> 0,80)	2,68*	(< 0,02)
27	0,59	(> 0,50)	0,58	(> 0,50)	0,77	(> 0,40)	0,62	(> 0,50)	0,92	(> 0,30)
31	5,78*	(< 0,001)	7,13*	(< 0,001)	4,12*	(< 0,001)	7,66*	(< 0,001)	1,36	(> 0,10)
23	1,18	(> 0,20)	0,75	(> 0,40)	1,29	(> 0,20)	1,51	(> 0,10)	0,56	(> 0,50)
23									1,39	(> 0,10)
25	0,11	(> 0,90)	1,13	(> 0,20)	0,53	(> 0,60)	0,09	(> 0,90)	1,54	(> 0,10)
24	0,29	(> 0,70)	0,94	(> 0,30)	0,38	(> 0,70)	0,43	(> 0,60)	1,36	(> 0,10)
24	1,29	(> 0,20)	0,40	(> 0,60)	1,22	(> 0,20)	0,96	(> 0,30)	1,60	(> 0,10)
24	2,21*	(< 0,05)	0,40	(> 0,60)	2,35*	(< 0,05)	0,41	(> 0,70)	0,06	(> 0,90)
17									0,69	(> 0,50)
21							1,53	(> 0,10)		
21									0,45	(> 0,60)
16									0,90	(> 0,30)
28	1,22	(> 0,20)	1,16	(> 0,20)	2,65*	(< 0,02)	2,32*	(< 0,05)	1,03	(> 0,30)

Le nombre des degrés de liberté a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque.

TABLEAU XLVII

Influence du CO₂ sur les composés α -aminés des hématies du Rat traité par la métyrapone : signification statistique des différences (test t de STUDENT - FISCHER après analyse de la variance).

		Valeur de l'écart réduit (t) et probabilité (p) de l'hypothèse nulle (entre parenthèses)									
Amino	V _R	Méty + CO ₂ CO ₂		Méty + CO ₂ Méty		Méty + CO ₂ Tartr. + CO ₂		Méty + CO ₂ Normaux		Méty Normaux	
		t	p	t	p	t	p	t	p	t	p
Thr	20	0,38	(> 0,70)	0,84	(> 0,40)	1,88	(> 0,05)	1,53	(> 0,10)	0,63	(> 0,50)
Ser	18	1,55	(> 0,10)	1,28	(> 0,20)			1,22	(> 0,20)	0,66	(> 0,50)
Gly	20	0,90	(> 0,30)	0,58	(> 0,50)	1,19	(> 0,20)	0,89	(> 0,30)	0,26	(> 0,80)
Ala	18	0,74	(> 0,40)	0,81	(> 0,40)	2,51 *	(< 0,05)	0,66	(> 0,50)	0,45	(> 0,60)
Val	15	2,27 *	(< 0,05)	1,69	(> 0,10)	5,75 * ($< 0,001$)		2,22 * ($< 0,05$)		0,18	(> 0,80)
Met	12										
Ile	17	1,52	(> 0,10)	0,25	(> 0,80)	1,47	(> 0,10)	1,70	(> 0,10)	1,41	(> 0,10)
Leu	17	1,27	(> 0,20)	0,20	(> 0,80)	1,54	(> 0,10)	0,99	(> 0,30)	0,75	(> 0,40)
Tyr	16	1,73	(> 0,10)	1,60	(> 0,10)	2,25 *	(< 0,05)	1,98	(> 0,05)	0,09	(> 0,90)
Phe	15	0,68	(> 0,50)	0,27	(> 0,70)	3,17 * ($< 0,01$)		0,46	(> 0,60)	0,14	(> 0,80)
Lys	12	1,71	(> 0,10)	1,73	(> 0,10)			1,30	(> 0,20)	0,52	(> 0,60)
His	10									1,82	(> 0,10)
Taur	17	0,68	(> 0,50)	1,48	(> 0,10)	1,88	(> 0,05)	1,15	(> 0,20)	0,91	(> 0,30)

Le nombre des degrés de liberté a été calculé d'après l'effectif total des animaux témoins et traités employés dans la même série d'expériences. Les différences significatives sont celles pour lesquelles la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure à 0,05. Elles sont signalées par un astérisque.

ANNEXE VI

LES COEFFICIENTS DE VARIATION DES ACIDES AMINES

Le calcul des coefficients de variation des acides aminés permet de comparer la variabilité des divers amino-acides en exprimant l'écart standard en pourcentage de la moyenne. Nous les avons rassemblés dans les tableaux ci-après .

TABLEAU XLVIII

Influence du CO_2 sur les composés α -aminés du sang total, du plasma, des hématies chez le Rat : coefficients de variation.

	Sang total		Plasma		Hématies	
	Normaux	CO_2	Normaux	CO_2	Normaux	CO_2
Glu	39,97 (II)	48,79 (8)	31,82 (12)	18,61 (8)		
Gln	27,95 (II)	52,57 (7)	12,10 (10)	20,13 (9)		
Thr	15,50 (II)	11,71 (8)	13,49 (12)	16,94 (10)	23,98 (8)	16,96
Ser	4,52 (10)	10,95 (8)	13,13 (12)	28,88 (10)	15,90 (7)	9,32
Gly	18,09 (II)	17,94 (8)	13,34 (12)	27,14 (7)	32,06 (8)	9,14
Ala	16,07 (II)	14,72 (8)	13,98 (11)	19,18 (9)	30,97 (8)	22,51
Val	22,61 (II)	22,57 (8)	40,11 (12)	31,10 (6)	28,12 (8)	64,32
Met	18,70 (10)	12,33 (8)	18,14 (12)	24,50 (7)	38,76 (6)	51,25
Ile	23,06 (10)	17,23 (8)	37,78 (12)	23,58 (8)	32,47 (7)	32,53
Leu	23,49 (10)	20,38 (8)	21,21 (11)	24,82 (8)	35,88 (7)	27,63
Tyr	8,50 (8)	13,49 (8)	18,65 (12)	15,15 (7)	40,65 (7)	42,58
Phe	16,08 (9)	14,67 (8)	20,97 (12)	18,03 (7)	28,94 (7)	24,67
Orn	17,69 (9)	16,54 (7)	39,38 (9)	33,92 (5)	56,42 (5)	
Lys	17,15 (9)	8,65 (7)	19,84 (9)	16,28 (7)	9,94 (4)	6,99
His	24,94 (9)	25,74 (6)	22,11 (9)	41,59 (7)	25,62 (5)	
Arg	18,07 (9)	16,63 (8)	21,91 (6)	14,24 (6)	20,53 (3)	11,23
Taur	23,66 (II)	20,13 (7)	21,49 (12)	28,76 (10)	21,10 (7)	25,29

Le nombre des déterminations figure entre parenthèses.

TABLEAU XLIX

Influence du tartrate de sodium sur les composés α - aminés dans le sang, le plasma et les hématies du Rat normal ou hypercapnique : coefficients de variation.

	SANG TOTAL		PLASMA		HEMATIES	
	Tartrate	Tartrate + CO ₂	Tartrate	Tartrate + CO ₂	Tartrate	Tartrate + CO ₂
Nombre expériences	(4)	(3)	(4)	(3)	(4)	(3)
Alu	6,2 (4)	21,0 (3)		43,8 (3)		
Aln	21,8 (4)	2,9 (3)		25,0 (3)		
Thr	26,5 (4)	29,5 (3)		17,5 (3)		52,3 (3)
Ter	11,7 (4)	25,0 (2)		6,1 (3)		
Ally	21,4 (4)	20,0 (3)		18,4 (3)		31,2 (3)
Ala	29,8 (3)	9,0 (3)		6,4 (3)		13,1 (3)
Val	25,2 (3)	17,6 (3)		14,9 (3)		21,0 (3)
Met	7,9 (3)	24,7 (3)		16,0 (3)		35,4 (3)
Ile	11,5 (3)	18,0 (3)		23,0 (3)		16,8 (3)
Leu	21,4 (3)	2,5 (3)		11,2 (3)		6,9 (3)
Tyr	6,1 (3)	15,1 (3)		14,4 (3)		36,4 (3)
Phe	8,0 (3)	19,3 (3)		15,7 (3)		33,4 (3)
Orn	23,1 (4)	6,8 (3)	31,0 (3)		25,5 (3)	
Lys	12,4 (4)	1,0 (2)	22,7 (3)		15,6 (3)	
His	16,2 (4)	1,9 (2)	22,2 (3)		41,1 (3)	
Arg	6,4 (4)	15,9 (2)	36,7 (3)		19,6 (3)	
Pro	17,5 (4)	14,0 (3)		24,5 (3)		11,2 (3)

Le nombre des déterminations est rappelé entre parenthèses.

TABLEAU L

Influence de la métyrapone sur les composés α -aminés dans le sang, le plasma et les hématies du Rat normal ou hypercapnique : coefficients de variation.

	Sang total		Plasma		Hématies	
	Métyrapone	Métyrapone + CO ₂	Métyrapone	Métyrapone + CO ₂	Métyrapone	Métyra + CO ₂
Nombre d'expériences	(7)	(5)	(7)	(5)	(7)	(5)
Glu	17,0 (6)	42,1 (4)	13,1 (3)	32,5 (3)		
Gln	25,3 (6)	36,7 (4)	27,5 (4)	17,3 (3)		
Thr	21,9 (6)	15,9 (4)	25,6 (4)	21,3 (3)	37,7 (4)	20,8 (4)
Ser	24,6 (6)	12,2 (4)	21,7 (4)	9,3 (3)	46,8 (4)	21,0 (4)
Gly	19,1 (6)	17,9 (4)	15,3 (4)	20,5 (3)	34,0 (4)	30,3 (4)
Ala	20,1 (6)	3,4 (4)	16,2 (3)	13,0 (3)	21,6 (3)	21,1 (4)
Val	29,3 (6)	8,9 (4)	14,5 (3)	34,1 (3)	9,9 (3)	32,7 (4)
Met	14,1 (5)	15,3 (4)	43,9 (3)			
Ile	31,1 (6)	25,2 (4)	47,5 (3)	16,7 (3)	27,6 (3)	46,4 (4)
Leu	24,5 (6)	22,4 (4)	52,6 (3)	10,8 (3)	13,7 (3)	49,4 (4)
Tyr	11,5 (6)	11,5 (4)	20,7 (3)	15,4 (3)	16,6 (3)	50,9 (4)
Phe	12,5 (6)	24,2 (4)	18,5 (3)	15,7 (3)	14,7 (3)	103,4 (4)
Orn	32,5 (6)	14,8 (4)	10,1 (3)			
Lys	19,2 (6)	11,8 (4)	11,8 (4)		32,1 (3)	
His	15,4 (6)	14,0 (3)	37,7 (4)		20,4 (3)	
Arg	20,6 (6)	32,5 (4)	11,5 (3)			
Taur	9,4 (5)	21,0 (4)	16,8 (4)	6,1 (3)	20,7 (3)	37,3 (4)

Le nombre des déterminations est rappelé entre parenthèses.

BIBLIOGRAPHIE



BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ADDAE S.K., LOTSPEICH W. D.
Relation between glutamine utilisation and production in metabolic acidosis.
Am. J. Physiol., 1968, 215, 269-277.
- 2 - ADIBI S. A.
Interrelationships between level of amino acids in plasma and tissues during starvation.
Am. J. Physiol., 1971, 221, 829-838.
- 3 - ADIBI S., NALLATHAMBI S., MODESTO T.
Changes in liver and skeletal muscle transport of amino-acids induced by diets.
J. Clin. Invest., 1972, 51, N°6, Ia, Abstract N°4.
- 4 - ALLEYNE G. A. O.
Concentrations of metabolic intermediates in kidneys of rats with metabolic acidosis.
Nature (London), 1968, 217, 847-848.
- 5 - ALLEYNE G. A. O.
Renal metabolic response to acid-base changes. II. The early effects of metabolic acidosis on renal metabolism in the rat.
J. Clin. Invest., 1970, 49, 943-951.
- 6 - ALLEYNE G. A. O., SCULLARD G. H.
Renal metabolic response to acid base changes. I Enzymatic control of ammoniagenesis in the rat.
J. Clin. Invest., 1969, 48, 364-370.
- 7 - ALTLAND P. D., BRUBACH H. F., PARKER M. G., HIGHMAN B.
Blood gases and acid-base values of unanesthetized rats exposed to hypoxia.
Am. J. Physiol., 1967, 212, 142-148.
- 8 - ANDERSON H. L., BENEVENGA N. J., HARPER A. E.
Associations among food and protein intake, serin dehydratase and plasma amino-acids.
Am. J. Physiol., 1968, 214, 1008-1013.
- 9 - AOKI H., HILGERS H., BROWN E. B., KITTLE C. F.
Haemodynamic effect of hypercapnia.
Surg. Forum, 1963, 14, 232-234.
- 10 - AOKI T. T., MULLER W. A., MARLISS E. B., CAHILL G. F. jr.
Hormonal control of glutamine levels
J. Clin. Invest., 1971, 50, N°6, 3a, Abstract N° 9.

- 11 - AOKI T.T., BRENNAN M.F., MULLER W.A., CAHILL C.F.jr.
Active role of blood cells in amino acid transport in man.
J.clin. Invest., 1972, 51, N°6, 4a, abstract N° 14.
- 12 - BANGE C., BANGE-BARNOUD R., LUONG TRONG NGHIA.
Modifications de l'alanine-aminotransférase, de l'aspartate-aminotransférase et de certains substrats dans le plasma et les tissus du rat au cours de l'hypercapnie.
J.Physiol. (Paris), 1972 (sous presse) .
- 13 - BANGE C., FAYE J.L., PERES G.
Influence de l'hypercapnie sur le taux du magnésium plasmatique et ses relations avec la glycémie. Etude chez le rat.
J.Physiol. (Paris), 1966, 58, 109-114.
- 14 - BARBOUR J.H., SEEVERS M.M.
A comparison of the acute and chronic toxicity of carbon dioxide with especial reference to its narcotic action.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1943, 78, 11-21.
- 15 - BARTHOLINI G., GEY K.F., PLETSCHER A.
Enhancement of tyrosine transamination in vivo by catecholamines.
Experientia, 1970, 26, 980-981.
- 16 - BENKERT O., MATUSSEK N.
Periphere Einflüsse auf zentralen Tyrosin-stoffwechsel.
Arzneimittel-Forschung., 1970, 20, 905-906.
- 17 - BENKERT O., MATUSSEK N.
Influence of hydrocortisone and glucagon on liver tyrosine transaminase and on brain tyrosine, norepinephrine and serotonin.
Nature (London), 1970, 228, 73-75.
- 18 - BERL S., TAKAGAKI G., CLARKE D.D., WAELSCH H.
Metabolic compartments in vivo. Ammonia and glutamic acid metabolism in brain and liver.
J.biol. Chem., 1962, 237, 2562-2569.
- 19 - BETHEIL J.J., FEIGELSON M., FEIGELSON P.
The differential effects of glucocorticoid on tissue and plasma amino-acid levels.
Biochim. Biophys. Acta, 1965, 104, 92-97 .
- 20 - BIGNALL M.C., ELEBUTE O., LOTSPEICH W.D.
Renal protein and ammoniac biochemistry in NH_4 Cl acidosis and after uninephrectomy.
Am. J. Physiol., 1968, 215, 289-295.

- 21 - BJÖRNESJÖ K. B.
The distribution of alpha amino nitrogen, urea nitrogen, and non Protein Nitrogen between Erythrocytes and Plasma in healthy males and females.
Scand. J. clin. Lab. Invest., 1963, 15, suppl. 69; 25-37.
- 22 - BLANCHARD L., PENAU H., SIMONNET H.
Le problème des glandes à sécrétion interne. II La Thyroïde.
Paris, P. U. F., 1932 (p.246).
- 23 - BLOCK W. D., MARKOV S. M. E., STEELE B. F.
Comparison between free amino-acid levels in plasma deproteinated with picric acid and with sulfosalicylic acid.
Proc. Soc. exp. biol. Med., 1966, 122, 1089-1091.
- 24 - BOHR C., HASSELBACH K., KROGH A.
Ueber einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluss, den die Kohlensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt.
Skand. Arch. Physiol., 1904, 16, 402-412.
- 25 - BOULANGER P.
Le rôle des hématies dans le transport et la mise en réserve des substances minérales et organiques (deuxième partie).
J. Physiol. (Paris), 1952, 44, 381-414.
- 26 - BOULANGER P., BISERTE G.
Chromatographie de partage des amino-acides libres du plasma sanguin.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1949, 31, 696-700.
- 27 - BOULANGER P., BISERTE G.
Chromatographie sur papier des acides aminés et polypeptides des liquides biologiques. II. Modifications techniques et résultats nouveaux (plasma sanguin).
Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, 1930-1939.
- 28 - BOULANGER P., DUCOUROUBLE J.
Relations entre les échanges gazeux et la fixation des amino-acides par les hématies.
C. R. Acad. Sci., 1950, 230, 1984-1985.
- 29 - BRUDIEUX E., DELOST F.
Action de la métopirone sur la teneur surrénalienne en amines médullaires chez la souris et les rongeurs sauvages.
J. Physiol. (Paris), 1966, 58, 479.
- 30 - BUJARD E. L., MAURON J.
A two dimensional separation of acid, neutral and basic amino acids by thin layer chromatography on cellulose.
J. Chromatogr., 1966, 21, 19-26.

- 31 - CALCUTT G.
Diurnal variations in rat blood glutathione levels.
Naturwissenschaften, 1967, 54, 120.
- 32 - CARTER N.W., SELDIN D.W., TENG H.C.
Tissue and renal response to chronic respiratory acidosis.
J. clin. Invest., 1959, 38, 949-960.
- 33 - CASTELLS S., SHIRALI S.
Daily rhythmic changes in hepatic phenylalanine hydroxylase activity : role of dietary phenylalanine.
Life Sci., 1971, 10, 233-239.
- 34 - CHANEL J.
Etudes sur les troubles de l'absorption intestinale des hexoses et des pentoses causés par le manque d'oxygène et l'excès d'acide carbonique. Bases enzymatiques des modifications du transit.
Thèse Doct. Sc., Lyon, 1956, 208 pp.
- 35 - CHART J.J., SHEPPARD H.
Pharmacology and Biochemistry of some Amphenone Analogues and other Adrenal cortical Inhibitors .
J. Med. Pharm. Chem., 1959, I, 407-441.
- 36 - CHART J.J., SHEPPARD H., ALLEN M.J., BENCZE W.L., GAUNT R.
New Amphenone Analogs as Adrenocortical Inhibitors.
Experientia, 1958, 14, 151.
- 37 - CHENG S.C., WAELSCH H.
Carbon dioxide fixation in lobster nerve.
Science, 1962, 136, 782-783.
- 38 - CHENG S.C., WAELSCH H.
Some quantitative aspects of the fixation of Carbon dioxide by the Lobster nerve.
Biochem. Z., 1963, 338, 643-653.
- 39 - CHRISTENSEN H.N., COOPER F., JOHNSON R.D., LYNCH E.L.
Glycine and alanine concentrations of body fluids; experimental modification.
J. Biol. Chem., 1947, 168, 191-196.
- 40 - CHRISTENSEN H.N., JONES J.C.
Action of estrogens on mediated transports into red blood cells.
J. Biol. Chem., 1961, 236, 76-80.
- 41 - CHRISTOPHE J., WINAND J., KUTZNER R., HEBBELINCK M.
Amino acid levels in plasma, liver, muscle, and kidney during and after exercise in fasted and fed rats.
Amer. J. Physiol., 1971, 221, 453-457.

- 42 - CHURCHILL P.C., MALVIN R.L.
Relation of renal gluconeogenesis to ammonia production in the dog.
Amer. J. Physiol., 1970, 218, 241-245.
- 43 - CHURCHILL P.C., MALVIN R.L.
Relation of renal gluconeogenesis to ammonia production in the rat.
Amer. J. Physiol., 1970, 218, 353-357.
- 44 - CONWAY E.J.
Microdiffusion analysis and volumetric error.
4 th edition, Crosby Lockwood, London, 1957.
- 45 - CORDIER D.
Action de l'acide carbonique sur la glycémie. Influence du trouble de l'équilibre acide-base.
Ann. Physiol. Physicoch. biol., 1934, 10, I-39.
- 46 - CORDIER D., CHANEL J.
Influence de la tension de l'anhydride carbonique dans l'air inspiré sur la vitesse de l'absorption intestinale des solutions isotoniques de glucose chez le rat.
J. Physiol. (Paris), 1950, 42, 459-462.
- 47 - CORDIER D., DESSAUX G.
Modifications du taux de glycogène cardiaque sous l'influence de l'anoxie, de l'asphyxie et de l'intoxication carbonique rapides.
C.R. Soc. Biol., 1951, 145, 727-729.
- 48 - CORDIER D., DESSAUX G.
Influence de l'inhalation de fortes concentrations d'anhydride carbonique sur le taux du glycogène cardiaque.
C.R. Soc. Biol., 1951, 145, 1542-1546.
- 49 - CORDIER D., MAGNE H., MAYER A.
Variations de l'équilibre acide-base au cours des asphyxies.
Ann. Physiol. Physicoch. biol., 1930, 6, 634-667.
- 50 - CORDIER D., PERES G.
Troubles de la protidémie provoqués par l'injection de divers corticostéroïdes chez le rat.
Arch. Int. Physiol., 1958, 66, 592-603.
- 51 - CORDIER D., PERES G.
Action des corticostéroïdes sur la protidémie du Rat.
J. Physiol. (Paris), 1958, 50, 229-232.
- 52 - CORDIER D., PERES G.
Effets de l'aldostérone sur le taux de l'azote aminé libre du sang total et du plasma sanguin chez le Rat.
C.R. Soc. Biol., 1961, 155, 521-524.

- 53 - CORDIER D., PIERY Y.
Relations entre les modifications du taux du potassium cardiaque et les troubles du métabolisme du glycogène myocardique provoqués par l'anoxie ou l'intoxication carbonique.
C.R. Soc. Biol., 1953, 147, 1412-1414.
- 54 - COTTE J., COLLOMBEL C., BALTASSAT P., ROUTIER P.
Séparation chromatographique sur couche mince des acides aminés sanguins et urinaires.
Pathol. Biol., 1968, 16, 339-346.
- 55 - CRISMON C.A., HANVEY R.V., LUCK J.M.
The effects of epinephrine, potassium penthiobarbital and insulin on the concentration of amino-acid nitrogen in the blood of fasting dogs.
Amer. J. Physiol., 1940, 130, 171-176.
- 56 - DALLE M., GIRY J., VEYSSIERE G., BRUDIEUX R., DELOST P.
Augmentation des amines médullaires dans la surrénale après traitement prolongé par la Métopirone.
C.R. Soc. Biol., 1970, 164, 2012-2017.
- 57 - DAMIAN A.C., PITTS R.F.
Rates of glutaminase I and glutamine synthetase reactions in rat kidney in vivo.
Amer. J. Physiol., 1970, 218, 1249-1255.
- 58 - DASTRE A.
De la glycémie asphyxique.
Paris, éditions du Progrès Médical, Delahaye et Cie ed., 1879, 38 pp.
- 59 - DAVIES B.M., YUDKIN J.
Studies in biochemical adaptation. The origin of urinary ammonia as indicated by the effect of chronic acidosis and alkalosis on some renal enzymes in the rat.
Biochem. J., 1952, 52, 407-412.
- 60 - DEQUIDT J.
Les échanges érythro-plasmatiques d'amino-acides en présence d'hémoglobine et d'oxy-hémoglobine.
Thèse Doct. Pharmacie, Lille, 1954.
- 61 - DESSAUX G.
La réserve glycogénique du coeur des mammifères. Etude expérimentale des variations du taux du glycogène cardiaque chez le rat, sous l'influence des modifications de tension des gaz du sang et dans divers états de choc.
Thèse Doct. Sc., Lyon, 1954, 140 pp.

- 62 - DUBREUIL R., TIMIRAS P.S., AUCLAIR J.L.
Effet de la cortisone sur la concentration des composés aminés libres du sérum et des organes chez le Lapin.
Ann. ACFAS, Canada, 1953, 19, 78-81.
- 63 - DUCHATEAU-BOSSON G., FLORKIN M.
Histoire du métabolisme intermédiaire. I. Biosynthèse de la valine, de l'isoleucine et de la leucine.
Mémoires Acad. roy. Belgique, Cl. des Sciences, 1965, 36, 1-48.
- 64 - DURAND R., PIALOUX N., GODINOT C., GAUTHERON D.
Oxydation du glutamate par des sarcosomes de coeur de porc: effets des inhibiteurs et des ions NH_4^+ .
Bull. Soc. Chim. Biol., 1965, 47, 2115-2124.
- 65 - DUVEAU A.
Contribution à l'étude du métabolisme des glucides chez la grenouille. Influence de l'asphyxie et de l'hypoxie progressives sur le taux intratissulaire et sur la vitesse de phosphorylation du glycogène dans le foie et le muscle squelettique.
Thèse Doct. Sc. Lyon, 1961, 188 pp.
- 66 - FELIG P., MARLISS E., OWEN O.E., CAHILL G.F. jr.
Role of substrate in the regulation of hepatic gluconeogenesis in fasting man.
Adv. Enzyme. Regul., 1969, 7, 41-46.
- 67 - FELIG P., POZEFSKY R., MARLISS E., CAHILL G.F. jr.
Alanine: key role in gluconeogenesis
Science, 1970, 167, 1003-1004.
- 68 - FERNSTROM J.D., LARIN F., WURTMAN R.J.
Daily variations in the concentrations of individual amino acids in rat plasma.
Life. Sci., 1971, 10, 813-819.
- 69 - FILITTI-WURMSER S., MOREL M.
Sur l'équilibre entre quelques amino acides et les acides cétoniques correspondants.
Enzymologia, 1941, 9, 369-372.
- 70 - FISHMAN B., WURTMAN R.J., MUNRO H.N.
Daily rhythms in hepatic polysome profiles and tyrosine transaminase activity: role of dietary protein.
Proc. Nat. Acad. Sci., 1969, 64, 677-682.
- 71 - FLEURY P.
Protéines sériques. Microdosage et semi-microdosage par la méthode photométrique.
Fiches techniques de Chimie biologique, cinquième supplément, Paris, 1953, ed. Vega (fiche 12 bis).

- 72 - FLORES G., ROSADO A., TORRES J., SOBERON G.
Liver enzyme activities in ammonia fixation by the rat.
Am. J. Physiol., 1962, 203, 43-48.
- 73 - FLORKIN M.
La composante amino-acide des tissus et des liquides organiques.
Exp. Ann. Bioch. Med., 1957, 19, 121-140.
- 74 - FLORKIN M., DUCHATEAU-BOSSON G., JEUNIAUX C.,
SCHOFFENIELS E.
Sur le mécanisme de la régulation de la concentration intracellulaire en acides aminés libres, chez Eriocheir sinensis, au cours de l'adaptation osmotique.
Arch. Int. Physiol. Bioch., 1964, 72, 892-906.
- 75 - FOSTER D.O., RAY P.D., LARDY H.A.
Studies on the mechanisms underlying adaptive changes in rat liver phosphoenolpyruvate carboxykinase.
Biochemistry, 1966, 5, 555-562.
- 76 - FRANKLIN K.J., Mc GEE L.E., ULLMANN E.A.
Effect of severe asphyxia on the kidney and urine flow.
J. Physiol. (London), 1951, 112, 42-53.
- 77 - FULLER R.W.
Rhythmic Changes in Enzyme Activity and their Control.
in "Enzyme Synthesis and Degradation in Mammalian systems",
Basel, 1971, Karger, pp. 311-338.
- 78 - GAN J.G., JEFFAY H.
Origins and metabolism of the intracellular amino acid pools in rat liver and muscle.
Biochim. Biophys. Acta, 1967, 148, 448-459.
- 79 - GAUTHERON D., DURAND R., PIALOUX N., GAUDEMER Y.
Rôle de la déshydrogénase glutamique et de la transaminase aspartique/glutamique dans l'oxydation du glutamate par des sarcosomes de coeur et d'utérus de porc.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1964, 46, 645-660.
- 80 - GELOSO J.P.
Effet du stress opératoire sur la néo-glucogénèse rénale au cours de l'acidose métabolique chez le Rat.
J. Physiol. (Paris), 1970, 62, suppl. 3, 381.
- 81 - GELOSO J.P., DELAVAL E.
Acidose métabolique maternelle et néo-glucogénèse rénale chez le fœtus de Rat.
J. Physiol. (Paris), 1970, 62, suppl. 3, 382.

- 82 - GILLES R., SCHOFFENIELS E.
Fixation de $^{14}\text{CO}_2$ par les acides aminés de la chaîne nerveuse ventrale du crustacé Homarus vulgaris M. EDW.
Arch. Int. Physiol. Bioch., 1968, 76, 441-451.
- 83 - GILLIS C.N., ROTH R.H.
Catecholamine biosynthesis in vascular tissue.
Experientia, 1970, 26, 960-961.
- 84 - GODINOT C., GAUTHERON D.
Nucleotide and phosphate regulation of glutamate oxidation in pig heart mitochondria by glutamate dehydrogenase (GDH) .
Biochimie (France), 1972, 54, 245-256.
- 85 - GOLDSTEIN L.
Relation of glutamate to ammonia production in the rat kidney.
Am. J. Physiol., 1966, 210, 661-666.
- 86 - GOLDSTEIN L.
Pathways of glutamine deamination and their control in the rat kidney.
Am. J. Physiol., 1967, 213, 983-989.
- 87 - GOLDSTEIN L., COPENHAVER J.H. jr.
Relation of glutaminase I activity to glutamic acid concentration in the rat kidney.
Am. J. Physiol., 1960, 198, 227-229.
- 88 - GOLDSTEIN L., SCHOOLER J.M.
Regulation of ammonia production in the rat kidney.
Adv. Enzyme. Regul., 1967, 5, 71-86.
- 89 - GOODMAN A.D.
Relation of carbohydrate metabolism and ammonia production in the kidney.
in CAMPBELL J., GOLDSTEIN L. "Nitrogen metabolism and the environment". Londres, Academic Press, 1972 , pp.297-318.
- 90 - GOODMAN A.D., FUISZ R.E., CAHILL G.F. jr.
Renal gluconeogenesis in acidosis, alkalosis, and potassium deficiency : its possible role in regulation of renal ammonia production.
J. Clin. Invest., 1966, 45, 612-619.
- 91 - GOORNO W.E., RECTOR F.C. jr., SELDIN D.W.
Relation of renal gluconeogenesis to ammonia production in the dog and rat.
Am. J. Physiol., 1967, 213, 969-974 .

- 92 - GORNALL A., BARDAWILL C., DAVID M.
Determination of serum proteins by means of the biuret reaction.
J. Biol. Chem., 1949, 177, 751-766.
- 93 - GRIFFIN A.C., LUCK J.M., KULAKOFF V., MILLS M.
Further observations on the endocrine regulation of blood amino acids.
J. Biol. Chem., 1954, 209, 387-393.
- 94 - GUILLEMIN K., DEAN W.E., LIEBELT R.A.
Nycthemeral variations in plasma free corticosteroid levels of the rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 101, 394-395.
- 95 - HAIS I.M., MACEK U.K.
"Handbuch der Papierchromatographie".
Jena : VEB Gustav Fischer Verlag 1958, (P.780). d'après STAHL (1965).
- 96 - HANKING B.M., ROBERTS S.
Stimulation of protein synthesis in vitro by elevated levels of amino acids.
Biochim. Biophys. Acta, 1965, 104, 427-438.
- 97 - HERBERT J.D., COULSON R.A., HERNANDEZ T.
Free amino acids in the caiman and rat.
Comp. Biochem. Physiol., 1966, 17, 583-598.
- 98 - HIGASHINO K., FUJIOKA M., AOKI T., YAMAMURA Y.
Metabolism of lysine in rat liver.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 1967, 29, 95-100.
- 99 - INTERNATIONAL UNION BIOCHEMISTRY
Enzyme nomenclature. Recommendations (1964) of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and classification of Enzymes, together with their Units and the symbols of Enzyme kinetics.
Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1965, 219 pp.
- 100- JANICKI R.H.
Renal adaptation during chronic NH_4Cl acidosis in the rat : no role for hyperplasia.
Am. J. Physiol., 1970, 219, 613-618.
- 101- JANICKI R.H., GOLSTEIN L.
Glutamine synthetase and renal ammonia metabolism.
Am. J. Physiol., 1969, 216, 1107-1110.
- 102- JOST J.P., HSIE A.W., RICKENBERG H.V.
Regulation of the synthesis of rat liver serine dehydratase by adenosine 3'-5'-cyclic monophosphate.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 1969, 34, 748-754.

- 103 - KAMM D.E., ASHER R.R.
Relation between glucose and ammonia production in renal cortical slices.
Am.J.Physiol., 1970, 218, 1161-1165.
- 104 - KAMM D.E., FUISZ R.E., GOODMAN A.D., CAHILL G.F.
Acid-base alterations and renal gluconeogenesis : effect of pH , bicarbonate concentration and $p\text{CO}_2$.
J. Clin. Invest., 1967 , 46 , 1172-1177.
- 105 - KAPLAN J.C., DREYFUS J.C.
Dosage du glutathion érythrocytaire par un disulfure aromatique nitré : l'acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) .
Bull.Soc.Chim.Biol., 1964, 46 , 775-783.
- 106 - KATUNUMA N., HUZINO A., TOMINO I.
Organ specific control of glutamine metabolism.
Adv.Enzyme.Regul., 1967, 5 , 55-69.
- 107 - KEDENBURG C.P.
A lithium buffer system for accelerated single-column amino acid analysis in physiological fluids.
Anal. Biochem., 1971, 40 ,35-42.
- 108 - KENDALL M.G.
A course in multivariate analysis.
Londres, 1957, Griffin, 185 pp.
- 109 - KENNEY F.T.
Induction of tyrosine- α -ketoglutarate transaminase in rat liver - III . Immunochemical analysis.
J.Biol.Chem., 1962, 237, 1610-1614.
- 110 - KERLY M., SPRUYT J.E.L.
Amino acid metabolism in the isolated perfused rat liver.
J.Physiol. (London), 1971, 216 , 11-20.
- 111 - KERR W.D., HILLS A.G., REID E.L.
Sources of urinary Ammonia transported to kidney as Glutamine.
J.Clin.Invest., 1971, 50 , N°6, 53a, Abstract N° 178.
- 112 - KITTLE C.F., AOKI H., BROWN E.B.jr.
The role of pH and CO_2 in the distribution of blood flow.
Surgery, 1965, 57, 139-154.
- 113 - KLAHR S.
Dissociation of renal Gluconeogenesis from Ammonia Production.
J. Clin. Invest., 1971, 50, N°6, 54a, Abstract N° 180.
- 114 - KOPECKY F.A., RAYBURN C.J., WHITEHEAD R., DRAPER W.B.
A study of anuria occurring during apnea under diffusion respiration.
Am. J. Physiol., 1952, 168, 131-137.

- 115 - KRAULIS I., TRAIKOV H., LI M.P., LANTOS C.P.,
BIRMINGHAM M.K.
The reduction of SU-4885 by adrenal glands and other tissues
and its inhibition by ACTH.
Canad. J. Biochem., 1968, 46, 463-469.
- 116 - KREBS H.A.
Metabolism of amino acids. IV The synthesis of glutamine
from glutamic acid and ammonia and the enzymatic hydrolysis
of glutamine in animal tissues.
Biochem. J., 1935, 29, 1951-1969.
- 117 - KREBS H.
Gluconeogenesis.
Proc. Roy. Soc., ser. B., 1964, 159, 545-564.
- 118 - KREBS H.A., BENNETT D.A.H., GASQUET, P. de ,
GASCOYNE T., YOSHIDA T.
Renal gluconeogenesis . The effect of diet on the gluconeogenic
capacity of rat kidney cortex slices.
Biochem. J., 1963, 86, 22-27 .
- 119 - KREBS H.A., HENSELEIT K.
Untersuchungen Über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
(Hoppe-Seyler's) Z. Physiol. Chem., 1932, 210, 33-66.
- 120 - LACY W.W.
Uptake of individual amino acids by perfused rat liver :
effect of acute uremia.
Am. J. Physiol., 1970, 219, 649-653.
- 121 - LAMOTTE M.
Introduction à la biologie quantitative.
Paris, 1948, Masson ed.
- 122 - LAMOTTE M.
Initiation aux méthodes statistiques en biologie.
Paris, 1957, Masson ed., 144 pp.
- 123 - LANDAU R.L., LUGIBIHL K.
The effect of progesterone on amino-acid metabolism.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1961, 21, 1355-1363.
- 123bis- LANDAU R.L., LUGIBIHL K.
Effect of glucagon on concentration of several free amino acids
in plasma.
Metabolism, 1969, 18, 265-276.
- 124 - LANE E.A., MAVRIDES C.
Evidence for the coupling of the regulation of tyrosine amino-
transferase and phosphoenolpyruvate carboxykinase.
Canad. J. Biochem., 1970, 48, 1297-1301 .

- 125 - LEE S.H.
The possible role of the vesicles in renal ammonia excretion.
J. Cell. Biol., 1970, 45, 644-649.
- 126 - LEUTHARDT F.
Untersuchungen über die Harnstoff-bildung des Glutamin.
Z.f. Physiol. Chem., 1938, 252, 238-260.
- 127 - LIN E.C.C., KNOX W.E.
Role of enzymatic adaptation in production of experimental alkaptonuria.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1957, 96, 501-505.
- 128 - LIN E.C.C., KNOX W.E.
Specificity of the adaptive response of tyrosine- α -ketoglutarate transaminase in the rat.
J. Biol. Chem., 1958, 233, 1186-1189.
- 129 - LITWACK G., WINICOV I., SQUIRES J.M.
The effects of pH on the rat liver tyrosine aminotransferase system.
Biochim. Biophys. Acta., 1966, 128, 404-406.
- 130 - LOTSPEICH W.D., PITTS R.F.
The role of amino acids in the tubular secretion of ammonia.
J. Biol. Chem., 1947, 168, 611-622.
- 131 - LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J.
Protein measurement with the Folin Phenol reagent.
J. Biol. Chem., 1951, 193, 265-275.
- 132 - LUCK J.M., GRIFFIN A.C., BOER G., WILSON M.
On the endocrine regulation of blood amino acid content.
J. Biol. Chem., 1954, 206, 767-777.
- 133 - LUECK J.D., MILLER L.L.
The effect of perfusate pH on glutamine metabolism in the isolated perfused rat liver.
J. Biol. Chem., 1970, 245, 5491-5497.
- 134 - LYON M.L., PITTS R.F.
Species differences in renal glutamine synthesis in vivo.
Am. J. Physiol., 1969, 216, 117-122.
- 135 - MAGGI P.
Effets de l'hypoxie et de l'hypercapnie sur l'absorption intestinale du glucose, in vivo, et sur quelques constituants du sang, chez le rat.
Thèse Univ. Lyon, (Sci.), 1970, (pp. 57 et 69).
- 136 - MALATHI P., SESHADRI SASTRY P., GANGULY J.
Amino-acid patterns in vitamin A - deficient rats.
Nature, 1961, 189, 660-661.

- 137 - MARLISS E. B., AOKI T. T., POZEFSKY T., MOST A. S., CAHILL G. F. jr.
Muscle and splanchnic glutamine and glutamate metabolism
in post absorptive and starved man.
J. Clin. Invest., 1971, 50, 814-817.
- 138 - Mc MENAMY R. H., VANG J., DRAPANAS T.
Amino acid and α -keto-acid concentrations in plasma and
blood of the liverless dog.
Am. J. Physiol., 1965, 209, 1046-1052.
- 139 - MEZINCESCO M. D.
Erreurs systématiques dans l'analyse du sang. I- Valeur des
données analytiques obtenues après désalbumination par la
méthode de Moog.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1937, 19, 109-112.
- 140 - MILLER L. L.
The role of the liver and non hepatic tissues in the regulation
of free amino acid levels in the blood.
"Amino-Acid pools" J. T. HOLDEN, ed., Amsterdam, 1962.
Elsevier, pp. 708-717.
- 141 - MIMURA T., YAMADA C., SWENDSEID M. E.
Influence of dietary protein levels and hydrocortisone adminis-
tration on the branched chain amino acid transaminase acti-
vity in rat tissues.
J. Nutrit., 1968, 95, 493-497.
- 142 - MITTELMAN A., DOS S. J., BARKER H. G., NAHAS G. G.
Adrenocortical response during corrected and uncorrected
hypercapnic acidosis.
Am. J. Physiol., 1962, 202, 334-336.
- 143 - MOFFAT E. D., LYTLE R. I.
Polychromatic technique for the identification of amino acids
on paper chromatograms.
Anal. Chem., 1959, 31, 926-928.
- 144 - MONDON C. E., MORTIMORE G. E.
Effects of insulin on amino acid release and urea formation
in perfused rat liver.
Am. J. Physiol., 1967, 212, 173-178.
- 145 - MOORE S., STEIN W. H.
Photometric ninhydrin method for use in the chromatography
of aminoacids.
J. Biol. Chem., 1948, 176, 367-388.
- 146 - MORRIS M. E., MILLAR R. A.
Blood pH/plasma catecholamine relationships : Respiratory
acidosis.
Brit. J. Anaesthesia, 1962, 34, 672-681.

- 147 - MUNIER R.L., SARRAZIN G.
Chromatographie en couche mince des aminoacides de grande mobilité (isoleucine, leucine, méthionine, phénylalanine, tryptophane, tyrosine, valine).
Bull. Soc. Chim. France, 1965, 5 , 1490-1491.
- 148 - NAGATSU T., LEVITT M., UDENFRIEND S.
Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis.
J. Biol. Chem., 1964, 239 , 2910-2917.
- 149 - NAHAS G.G.
Equilibre acido-basique et régulations métaboliques.
Actual. Physiol. Path., 1970, 3 , 155-167.
- 150 - NAHAS G.G., LIGOU J.C., MEHLMAN B.
Effect of pH changes on O₂ uptake and plasma catecholamine levels in the dog.
Am. J. Physiol., 1960, 198 , 60-66 .
- 151 - NAHAS G.G., STEINSLAND O.S.
Increased rate of catecholamines synthesis during respiratory acidosis.
Resp. Physiol., 1968, 5 , 108-117.
- 152 - NASH T.P. jr., BENEDICT S.R.
The ammonia content of the blood, and its bearing on the mechanisms of acid neutralization in the animal organism.
J. Biol. Chem., 1921, 48 , 463-488.
- 153 - NI FHAOLAIN J., O'DONAVAN D.J.
A relationship between rat kidney mitochondrial swelling and glutaminase activation.
Am. J. Physiol., 1971, 221 , 58-63.
- 154 - NORMAN J.N., Mac INTYRE J., SHEARER J.R., CRAIGEN I.M., SMITH G.
Effect of carbon dioxide on renal blood flow.
Am. J. Physiol., 1970, 219 , 672-676.
- 155 - OCHOA S., WEISZ-TABORI, E.
Biosynthesis of tricarboxylic acids by carbon dioxide fixation. II Oxalosuccinic carboxylase.
J. Biol. Chem., 1948, 174 , 123-132.
- 156 - O'DONAVAN D.J., LOTSPEICH W.D.
Activation of kidney mitochondrial glutaminase by inorganic phosphate and organic acids.
Nature, 1966, 212 , 930-932.

- 157 - O'DONOVAN D.J. , LOTSPEICH W.D.
Factors affecting the deamination of glutamine by kidney mitochondria of normal and acidotic rats.
Enzymologia, 1968, 35 , 82-92.
- 158 - OGAWA Y. , KOMETANI Y. , BABA Y.
Studies on Glutamic Oxalacetic Transaminase in the Rat.
III . Hormonal control of isoenzyme levels in liver by the pituitary-adrenal system.
Chem. Pharm. Bull. , 1968, 16, 1948-1952.
- 159 - OWEN E.E. , ROBINSON R.R.
Amino-acid extraction and ammonia metabolism by the human kidney during prolonged administration of ammonium chloride.
J. Clin. Invest. , 1963, 42 , 263-276.
- 160 - PALEOLOGOS G. , MUNTWYLER E. , KESNER L.
Alanine and glutamine levels in rat liver tissue : a direct relationship to gluconeogenic state.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. , 1969, 132 , 270-271.
- 161 - PAWLAK M. , PION R.
Influence d'une diminution du taux protéique de la ration sur les teneurs en acides aminés libres des tissus sanguin et musculaire du rat en croissance.
Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. , 1968, 8 , 457-459.
- 162 - PAWLAK M. , PION R.
Influence de la supplémentation des protéines du blé par des doses croissantes de thréonine sur les teneurs en acides aminés libres du sang total et du muscle du rat en croissance.
C. R. Acad. Sci. , 1968, 266, 1993-1995.
- 163 - PENG Y. , BENEVENGA N.J. , HARPER A.E.
Amino Acid balance and food intake : effect of previous diet on plasma amino acids.
Am. J. Physiol. , 1969, 216 , 1020-1025.
- 164 - PERES G.
Les protéines sériques et leurs modifications sous l'influence de la surrénalectomie, des variations des tensions gazeuses et de divers types d'agression.
Thèse Doct. Sci. , Lyon, 1955, 234 pp.
- 165 - PERES G.
Influence des tensions gazeuses sur le taux de l'azote aminé libre du sang chez le Rat normal.
C. R. Soc. Biol. , 1961, 155 , 1294-1296.

- 166 - PERES G.
Influence des tensions gazeuses sur le taux de l'azote aminé libre du sang chez le rat surrénalectomisé.
C.R. Soc. Biol., 1961, 155, 1651-1654.
- 167 - PERES G., ZWINGELSTEIN G., BANGE C.
Effets de l'aldostérone sur quelques constituants organiques du milieu intérieur du Rat normal et du Rat surrénalectomisé.
C.R. 87ème Congrès Soc. Savantes, Poitiers, 1962, pp. 1377-1382.
- 168 - PIERY Y.
Contribution à l'étude des relations entre le métabolisme du glycogène et le métabolisme du potassium. Influence des tensions gazeuses sur le taux de ces constituants cellulaires dans le myocarde et le tissu hépatique.
Thèse Doct. Sci., 1957, 215 pp. (Lyon).
- 169 - PILKINGTON L.A., O'DONOVAN D.J.
Metabolism of glutamine in cortex slices from dog kidney during acid-base alterations.
Am. J. Physiol., 1971, 220, 1734-1739.
- 170 - PITOT H.C., PERAINO C.
Studies on the induction and repression of enzymes in rat liver. I- Induction of threonine dehydrase and ornithine - δ - transaminase by oral intubation of casein hydrolysate.
J. Biol. Chem., 1964, 239, 1783-1788.
- 171 - PITTS G.S.
Adiurnal rythm in the blood sugar of the white rat.
Am. J. Physiol., 1943, 139, 109-116.
- 172 - PITTS R.F.
Metabolism of amino acids by the perfused rat kidney.
Am. J. Physiol., 1971, 220, 862-867.
- 173 - PITTS R.F.
Control of renal ammonia metabolism.
in CAMPBELL J., GOLDSTEIN L. ed. "Nitrogen metabolism and the environment".
Londres, 1972, Academic Press, pp. 277-296.
- 174 - PITTS R.F., DAMIAN A.C., Mac LEOD M.B.
Synthesis of serine by rat kidney in vivo and in vitro.
Am. J. Physiol., 1970, 219, 584-589.
- 175 - PITTS R.F., De HAAS J., KLEIN J.
Relation of renal amino and amide nitrogen extraction to ammonia production.
Am. J. Physiol., 1963, 204, 187-191.

- 176 - PITTS R.F., PILKINGTON L.A.
The relation between plasma concentrations of glutamine and glycine and utilisation of their nitrogens as source of urinary ammonia.
J. Clin. Invest., 1966, 45, 86-93.
- 177 - PITTS R.F., STONE W.J.
Renal metabolism of alanine.
J. Clin. Invest., 1967, 46, 530-538.
- 178 - POLLAK V.E., MATTENHEIMER H., DE BRUIN H., WEINMAN K.J.
Experimental Metabolic Acidosis : the enzymatic Basis of Ammonia Production by the dog Kidney.
J. Clin. Invest., 1965, 44, 169-181.
- 179 - POLONOVSKI M., BOULANGER P., BIZARD G.
Formation d'ammoniaque aux dépens des acides aminés dans le rein du chien in vivo .
C.R. Acad. Sci., 1934, 198, 1815-1817.
- 180 - PRATT O.B., SWARTOUT H.O.
Tartrate metabolism. I Grape tartrates and the acid base balance. 2 The mode of action of injected tartrates.
J. Lab. Clin. Med., 1933, 18, 354-366, 367-370.
- 181 - PREUSS H.G.
Pyridine nucleotides in renal ammonia metabolism.
J. Lab. Clin. Med. 1968, 72, 370-382.
- 182 - PREUSS H.G.
Ammonia production from glutamine and glutamate in isolated dog renal tubules.
Am. J. Physiol., 1971, 220, 54-58.
- 183 - RECTOR F.C.jr., SELDIN D.W., ROBERTS A.D.jr., COPENHAVER J.
Relation of ammonia excretion to urine pH.
Am. J. Physiol., 1954, 179, 353-358.
- 184 - REHBERG M.L, GERRITSEN T.
Sarcosine metabolism in the rat.
Arch. Biochem. Biophys., 1968, 127, 661-665.
- 185 - RICHARDS J.B.
Effects of altered acid-base balance on adrenocortical function in anesthetized dogs.
Am. J. Physiol., 1957, 188, 7-8.
- 186 - RICHARDS J.B., STEIN S.N.
Effect of CO₂ exposure and respiratory acidosis on adrenal 17-hydroxycorticosteroid secretion in anesthetized dogs.
Am. J. Physiol., 1957, 188, 1-6 .

- 187 - RIVLIN R.S., LEVINE R.J.
Hepatic tyrosine transaminase activity and plasma tyrosine concentration in rats with altered thyroid function.
Endocrinol., 1963, 73, 103-107.
- 188 - RIVLIN R.S., MELMON K.L.
Cortisone provoked depression of plasma tyrosine concentration : relation to enzyme induction in man.
J. Clin. Invest., 1965, 44, 1690-1698.
- 189 - ROBERTS S.
Regulation of cerebral metabolism of amino acids. II. Influence of phenylalanine deficiency on free and protein-bound amino acids in rat cerebral cortex : Relationship to plasma levels .
Jour. Neurochem., 1963, 10, 931-940.
- 190 - ROBINSON P.F.
The effect upon albino rats of chronic exposure to various concentrations of CO₂ .
U.S. Army. Chem. Res. Develop. Lab. Techn. Rep., 1961, CRDLR 3067, pp. 5-21.
- 191 - ROUGIER G.
Sur les effets des fortes concentrations en gaz carbonique chez les différents animaux.
C.R. Soc. Biol., 1947, 141, 78-79.
- 192 - ROWSELL E.V., BUTTERY P.J., CARNIE J.A.
Species body size and liver glutamine synthetase, glutaminase and glutamine aminotransferase.
Biochem. J., 1969, 115, 43 P.
- 193 - RUSSEL J.A., CAPIELLO M.
The effect of pituitary growth hormone on the metabolism of administered amino acids in nephrectomised rats.
Endocrinol., 1949, 44, 333-344 .
- 194 - RYAN W.L., CARVER M.J.
Immediate and prolonged effects of hydrocortisone on the free amino-acids of the rat skeletal muscle.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1963, 114, 816-819 .
- 195 - SARTORIUS O.W., ROEMMELT J.C., PITTS R.F., CALHOON D., MINER P.
The renal regulation of acid-base balance in man. IV- The nature of the renal compensation in ammonium chloride acidosis.
J. Clin. Invest., 1949, 28, 423-439 .

- 196 - SAUNIER C., SCHIBI M., COLAS T.
Equilibre acido-basique et électrolytique du sang artériel et du liquide céphalo-rachidien au cours de l'hypoxie aiguë normocapnique chez le chien.
Bull. Physio-Pathol. resp., 1968, 4, 537-551.
- 197 - SAYRE R.W., ROBERTS E.
Preparation and some properties of a phosphate-activated glutaminase from kidneys.
J. Biol. Chem., 1958, 233, 1128-1134.
- 198 - SBARSKY B.
Die Rolle der Erythrocyten im intermediären Eiweisstoffwechsel.
Enzymologia, 1940-1941, 9, 302-319.
- 199 - SCHAEFFER K.E., KING C.T.G., MEGO J.L., WILLIAMS E.E.
Effect of a narcotic level of CO₂ on adrenal cortical activity and carbohydrate metabolism.
Am. J. Physiol., 1955, 183, 53-62.
- 200 - SCHARFF R., WOOL I.G.
Concentration of amino-acids in rat muscle and plasma.
Nature, 1964, 202, 603-604.
- 201 - SCHARFF R., WOOL I.G.
Effect of diabetes on the concentration of amino acids in plasma and heart muscle of rats.
Biochem. J., 1966, 99, 173-178.
- 202 - SCHIMASSEK H., GEROK W.
Control of the levels of free amino acids in plasma by the liver.
Biochem. Z., 1965, 343, 407-411.
- 203 - SCHIMKE R.T.
Studies on factors affecting the levels of urea cycle enzymes in rat liver.
J. Biol. Chem., 1963, 238, 1012-1018.
- 204 - SCHMIDINGER H., KRÖGER H.
Zur Hunger Induktion der Serin - Dehydratase in der Rattenleber.
(Hoppe-Seyler's) Z. Physiol. Chem., 1967, 348, 1367-1371.
- 205 - SCHOFFENIELS E.
The control of intracellular hydrogen transport by inorganic ions.
Arch. Int. Physiol. Bioch., 1968, 76, 319-343.

- 206 - SCHOFFENIELS E.
Cellular aspects of membrane permeability.
Handbook of Molecular Cytology, A. Lima de Faria ed.
Amsterdam, 1969, North-Holland Publishing Company,
pp. 1345-1372.
- 207 - SCHONER W., HAAG U., SEUBERT W.
On the mechanism of gluconeogenesis and its regulation.
VI. Regulation of carbohydrate metabolism by cortisol independent of the de novo synthesis of enzymes in rat liver.
(Hoppe-Seyler's) Z. Physiol. Chem., 1970, 351, 1071-1088.
- 208 - SCHÜLKE B., HOCK A.
Zur Charakterisierung des Hungerzustandes.
Arch. Tieremähr., 1970, 20, 221-225.
- 209 - SHALHOUB R., WEBBER W., GLABMAN S., CANESSA-FISHER M.,
KLEIN J., DE HAAS J., PITTS R.F.
Extraction of amino acids from and their addition to renal blood plasma.
Am. J. Physiol., 1963, 204, 181-186.
- 210 - SHAMBAUGH III G.E., WARNER D.A., BEISEL W.R.
Hormonal factors altering rhythmicity of tyrosine α -ketoglutarate transaminase in rat liver.
Endocrinol., 1967, 81, 811-818.
- 211 - SMITH E.L., TULLER E.F.
The paper chromatographic detection of the free sulfur-containing amino acids and small peptides in whole blood and serum.
Arch. Biochem. Biophys., 1955, 54, 114-120.
- 212 - SPACKMAN D.H., STEIN W.H., MOORE S.
Automatic recording apparatus for use in the chromatography of Amino Acids.
Anal. Chem., 1956, 30, 1190-1206.
- 213 - STAHL E.
Thin-Layer Chromatography.
New-York : Academic Press, 1^{ère} ed. 1965.
- 214 - STANA L., YEARICK E.S., PIPES S., WHITAKER T.
The amino acid content of blood plasma from normal and fasted rats.
Proc. West. Virginia. Acad. Sci., 1967, 39, 172-173.
- 215 - STEFANOVIC M.
Sur la composition chimique du sang dans l'hypothermie léthargique.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1954, 36, 1151-1161.
- 216 - STEIN W.H., MOORE S.
The free amino acids of human blood plasma.
J. Biol. Chem., 1954, 211, 915-926.

- 217 - STONE J.E., WELLS J., DRAPER W.B., WHITEHEAD R.W.
Changes in renal blood flow in dogs during the inhalation of
30% carbon dioxide.
Am. J. Physiol., 1958, 194, 115-119.
- 218 - STONE W.J., PITTS R.F.
Pathways of ammonia metabolism in the intact functioning
kidney of the Dog.
J. Clin. Invest., 1967, 46, 1141-1150.
- 219 - STUPFEL M.
Action du gaz carbonique sur la thermorégulation du rat blanc.
II. Recherche expérimentale du mécanisme d'action.
J. Physiol. (Paris), 1960, 52, 673-725.
- 220 - SZEBER'ENYI S., GARATTINI S.
Effect of metopirone on the rate of cortisol disappearance
from plasma.
Biochem. Pharmacol., 1969, 18, 927-928.
- 221 - SZEBER'ENYI S., SZALAY K.S., GARATTINI S.
Daily rythm of metyrapone metabolism in rats.
Biochem. Pharmacol., 1969, 18, 2767-2769.
- 222 - TAGER J.M., SLATER E.C.
Synthesis of glutamate from α -oxoglutarate and ammonia in
rat liver mitochondria. I - Comparison of different hydrogen
donors.
Biochim. Biophys. Acta, 1963, 77, 227-245.
- 223 - TAGER J.M., SLATER E.C.
Synthesis of glutamate from α -oxoglutarate and ammonia in
rat liver mitochondria. II - Succinate as hydrogen donor.
Biochim. Biophys. Acta, 1963, 77, 246-257.
- 224 - TERROINE E.F., CHAMPAGNE M.
La répartition des représentants urinaires du métabolisme
azoté et sa signification physiologique. - Influence de la prédo-
minance des générateurs d'acide sur la dépense azotée endo-
gène spécifique.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1933, 15, 235-262.
- 225 - THIVOLLE L., LAUGIER P.
A propos de l'étude du phosphore acido-soluble du sang.
Importance des corrections à apporter au résultat en raison
du volume du précipité de désalbumination trichloracétique.
C. R. Soc. Biol., 1938, 128, 1210-1212.
- 226 - TRINER L., NAHAS G.G.
Acidosis : Effect on lipolytic activity of norepinephrine in
isolated fat cells.
Science, 1965, 150, 1725-1727.

- 227 - TROUGHTON W.D., St-CLAIR BROWN R., TURNER N.A.
Separation of urinary amino acids by thin-layer high voltage electrophoresis and chromatography.
Am. J. Clin. Pathol., 1966, 46, 139-143 .
- 228 - VANDERMEERS A., VANDERMEERS-PIRET M. C., CHRISTOPHE J.
Synthèses protéiques in vivo dans le pancréas et le foie du rat normal, carencé en lysine et en thréonine, ou récupérant de cette carence.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1967, 49, 759-778.
- 229 - VAN SLYKE D.D., PHILLIPS E.A., HAMILTON P.B. ,
ARCHIBALD E.M., FUTCHER P.H., HILLER A.
Glutamine as a source material of urinary ammonia.
J. Biol. Chem., 1943, 150 , 481-482.
- 230 - WAELSCH H.
Fixation du gaz carbonique dans le système nerveux.
Actual. Neurophysiol., 1965, 6 , 29-42.
- 231 - WAELSCH H.
Biochemical interpretations of neurophysiological vectors.
Persp. Biol. Med., 1965, 9 , 165-186 .
- 232 - WAELSCH H., CHENG S.C., COTE L.J., NARUSE H.
CO₂ fixation in the nervous system.
Proc. Nat. Acad. Sci., 1965, 54 , 1249-1253.
- 233 - WEISS F.R., PREUSS H.G.
Glutamine synthetase and plasma glutamine in augmented ammoniagenesis in acidosis.
Am. J. Physiol., 1970, 218 , 1697-1700.
- 234 - WELLERS G., CHEVAN J., GALENT N.
Les "pools" d'acides aminés libres dans les tissus du rat normal.
C. R. Soc. Biol., 1966, 160, 739-742.
- 235 - WELLERS G., CHEVAN J., GALENT N.
Influence de la cortisone sur la vitesse de la dégradation irréversible in vivo de la valine libre.
C. R. Acad. Sci., 1971, 272, 1882-1885 .
- 236 - WELLERS G., LEBLANC M.
Contribution à l'étude du "pool" d'acides aminés. Effet de l'hyperthyroïdisme expérimental.
J. Physiol. (Paris), 57 , 720-721, (1965) .
- 237 - WELLERS G., LEBLANC M.
Les "pools" d'acides aminés libres des tissus du rat au cours de l'hyperthyroïdisme expérimental.
C. R. Soc. Biol., 1966, 160 , 1785-1787.

- 238 - WICKS W.D.
Tyrosine α -ketoglutarate transaminase : induction by epinephrine and adenosine 3'5'-cyclic phosphate.
Science, 1968, 160 , 997-998.
- 239 - WOLLENWEBER P.
Dünnschicht-chromatographische Trennungen von Amino säuren an Cellulose-schichten.
J. Chromatogr. , 1962, 9 , 369-371.
- 240 - WU C.
Glutamine Synthetase. I. A comparative study of its distribution in animals and its inhibition by DL-allo- δ - hydroxy-lysine.
Comp. Biochem. Physiol. , 1963, 8 , 335-351.
- 241 - WURTMAN R.J.
Time-dependent variations in amino acid metabolism : mechanism of the tyrosine transaminase rythm in rat liver.
Adv. Enzyme. Regul. , 1969, 7 , 57-67 .
- 242 - WURTMAN R.J. , ROSE C.M. , CHUAN CHOU , LARIN F.F.
Daily rhythms in the concentrations of various amino acids in human plasma.
New Engl. J. Med. , 1968, 279 , 171-175 .
- 243 - YOUNG J.A. , REID J. , EDWARDS K.D.G.
Separation and quantitation of aminoacids using high voltage paper-electrophoresis.
Proc. Aust. Ass. Clin. Biochem. , 1964, I , 95-100.

INDEX DES AUTEURS

INDEX DES AUTEURS

Tous les noms d'auteurs cités sont repris dans l'index , à leur place alphabétique, quelque soit leur rang dans la référence bibliographique; à la suite de chaque nom figurent les numéros de la bibliographie, placés entre parenthèses et suivis des pages où la publication est mentionnée dans le texte.

ADDAE S.M.	(1)	11; 107 .
ADIBI S.A.	(2)	106 ; 108 ; (3) 108 .
ALLEN M.J.	(36)	17 .
ALLEYNE G.A.O.	(4)	10 ; 111 ; (5) 10 ; (6) 10 .
ALTLAND P.D.	(7)	103 .
ANDERSON H.L.	(8)	107 .
AOKI H.	(9)	8 ; (112) 8 .
AOKI T.T.	(10)	107 ; (11) 16 ; 105 ; (98) 113 ;
	(137)	106; 107 .
ARCHIBALD R.M.	(229)	1 ; 7 .
ASHER R.R.	(103)	10 ; 11 .
AUCLAIR J.L.	(62)	13 .
BABA Y.	(158)	112 .
BALTASSAT P.	(54)	32 .
BANGE C.	(12)	111; 112 ; (13) 5 ; (167) 13.
BANGE - BARNOUD R.	(12)	111; 112 .
BARBOUR J.H.	(14)	49; 104 .
BARDAWILL C.	(92)	30.
BARKER H.G.	(142)	13.
BARTHOLINI G.	(15)	113 .
BEISEL W.R.	(210)	113 .
BENCZE W.L.	(36)	17.
BENEDICT S.R.	(152)	17.
BENEVENGA N.J.	(8)	107 ; (163) 126 ; 131 .
BENKERT O.	(16)	13 ; 115 ; (17) 115.
BENNETT D.A.H.	(118)	9 .
BERL S.	(18)	7.
BETHEIL J.J.	(19)	15 ; 115 ; 135 .
BIGNALL M.C.	(20)	109 .
BIRMINGHAM M.K.	(115)	17 .
BISERTE G.	(26)	31 ; (27) 31 .
BIZARD G.	(179)	7
BJÖRNESJÖ K.B.	(21)	28.
BLANCHARD L.	(22)	13 .
BLOCK W.D.	(23)	34.
BOER G.	(132)	13 .

BOHR C.	(24)	47 ; 49 .
BOULANGER P.	(25)	106 ; (26) 31 ; (27) 31 ; (28) 106 ;
	(179)	7 .
BRENMAN M.F.	(11)	16 ; 105 .
BROWN E. B. jr.	(9)	8 ; (112) 8 .
BRUBACH H.F.	(7)	103 .
BRUDIEUX R.	(29)	24 ; (56) 24 .
BUJARD E.L.	(30)	31 .
BUTTERY P.J.	(192)	11 .
CAHILL G.F. jr.	(10)	107 ; (11) 16 ; 105 ; (66) 106 ;
	(67)	12 ; 112 ; (90) 9 ; 10 ; (104) 9 ;
	(137)	12 ; 106 ; 107 .
CALCUTT G.	(31)	21 .
CALHOON D.	(195)	7 .
CANESSA - FISHER M.	(209)	116 ; 137 .
CAPIELLO M.	(193)	11 .
CARNIE J.A.	(192)	11 .
CARTER N.W.	(32)	7 ; 8 .
CARVER M.J.	(194)	13 ; 115 ; 126 ; 131 ; 135 .
CASTELLS S.	(33)	21 .
CHAMPAGNE M.	(224)	7 ; 110 .
CHANEL J.	(34)	5 ; (46) 104 .
CHART J.J.	(35)	17 ; 24 ; (36) 17 .
CHENG S.C.	(37)	7 ; (38) 7 ; (232) 7 .
CHEVAN J.	(234)	126 ; 127 ; (235) 15 .
CHRISTENSEN H.N.	(39)	13 ; 55 ; 105 ; (40) 13 .
CHRISTOPHE J.	(41)	126 ; 130 ; (228) 126 ; 129 .
CHUAN CHOU	(242)	21 .
CHURCHILL P.C.	(42)	11 ; (43) 11 .
CLARK D.D.	(18)	7 .
COLAS T.	(196)	103 .
COLLOMBEL C.	(54)	32 .
CONWAY E.J.	(44)	28 .
COOPER F.	(39)	13 ; 55 ; 105 .
COPENHAVER J.	(183)	7 .
COPENHAVER J.H. jr.	(87)	9 ; 111 ; 112 .
CORDIER D.	(45)	5 ; (46) 49 ; 104 ; (47) 5 ; (48) 5 ;
	(49)	104 ; (50) 13 ; (51) 13 ; (52) 13 ;
	(53)	5 .
COTE L.J.	(232)	7 .
COTTE J.	(54)	32 .
COULSON R.A.	(97)	126 ; 128 ; 132 .
CRAIGEN I.M.	(154)	8 .
CRISMON C.A.	(55)	13 .
DALLE M.	(56)	24 .
DAMIAN A.C.	(57)	9 ; 11 ; (174) 106 .
DASTRE A.	(58)	5 .

DAVID M.	(92)	30 .
DAVIES B.M.	(59)	8 .
DEAN W.E.	(94)	21 .
DE BRUIN H.	(178)	112 .
DE GASQUET P.	(118)	9 .
DE HAAS J.	(175)	137 ; (209) 116 ; 137 .
DELAVAL E.	(81)	10 .
DELOST P.	(29)	24 ; (56) 24 .
DEQUIDT J.	(60)	104 .
DESSAUX G.	(47)	5 ; (48) 5 ; (61) 5 .
DOS S.J.	(142)	13 .
DRAPANAS T.	(138)	108 .
DRAPER W.B.	(114)	8 .
DREYFUS J.C.	(105)	29 .
DUBREUIL R.	(62)	13 .
DUCHATEAU-BOSSON G.	(63)	108 ; (74) 109 .
DUCOUROUBLE J.	(28)	106 .
DURAND R.	(64)	112 ; (79) 21 ; 113 .
DUVEAU A.	(65)	5 .
EDWARDS K.D.G.	(243)	32 .
ELEBUTE O.	(20)	109 .
FARR A.L.	(131)	30 .
FAYE J.L.	(13)	5 .
FEIGELSON M.	(19)	15 ; 115 ; 135 .
FEIGELSON P.	(19)	15 ; 115 ; 135 .
FELIG P.	(66)	106 ; (67) 12 ; 112 .
FERNSTROM J.D.	(68)	21 .
FILITTI - WURMSER S.	(69)	111 .
FISHMAN B.	(70)	21 .
FLEURY P.	(71)	30 .
FLORES G.	(72)	110 .
FLORKIN M.	(63)	108 ; (73) 12 ; (74) 109 .
FOSTER D.O.	(75)	115 .
FRANKLIN K.J.	(76)	8 .
FUISZ R.E.	(90)	9 ; 10 ; (104) 9 .
FUJIOKA M.	(98)	113 .
FULLER R.W.	(77)	21 ; 113 .
FUTCHER P.H.	(229)	1 ; 7 .
GALENT N.	(234)	126 ; 127 ; (235) 15 .
GAN J.G.	(78)	109 .
GANGULY J.	(136)	126 ; 127 .
GARATTINI S.	(220)	17 ; (221) 17 .
GASCOYNE T.	(118)	9 .
GAUDEMER Y.	(79)	112 .
GAUNT R.	(36)	17 .
GAUTHERON D.	(64)	112 ; (79) 112 ; (84) 112 .
GELOSO J.P.	(80)	10 ; (81) 10 .

GEROK W.	(202)	106 .
GERRITSEN T.	(184)	126 ; 130 .
GEY K.F.	(15)	113 .
GILLES R.	(82)	7 .
GILLIS C.N.	(83)	113.
GIRY J.	(56)	24.
GLABMAN S.	(209)	116 ; 137 .
GODINOT C.	(64)	112 ; (84) 112.
GOLDSTEIN L.	(85)	9 ; 10 ; 111;112; (86) 9; (87) 9;111;112;
	(88)	7 ; 8 ; 9 ; 112 ; 116 ; (101) 126; 130.
GOODMAN A.D.	(89)	10 ; 11 ; (90) 9 ; 10 ; (104) 9 .
GOORNO W.E.	(91)	8 .
GORNALL A.	(92)	30 .
GRIFFIN A.C.	(93)	13 ; (132) 13.
GUILLEMIN K.	(94)	21 .
HAAG U.	(207)	112 .
HAIS I.M.	(95)	31 .
HAMILTON P.B.	(229)	1 ; 7 .
HANKING B.M.	(96)	126 ; 128 .
HANVEY R.V.	(55)	13 .
HARPER A.E.	(8)	107 ; (163) 126 ; 131 .
HASSELBACH K.	(24)	47 ; 49 .
HEBBELINCK M.	(41)	126 ; 130 .
HENSELEIT K.	(119)	5 .
HERBERT J.D.	(97)	126 ; 128 ; 132 .
HERNANDEZ T.	(97)	126 ; 128 ; 132 .
HIGASHINO K.	(98)	113 .
HIGHMAN B.	(7)	103 .
HILGERS H.	(9)	8 .
HILLER A.	(229)	1 ; 7 .
HILLS A.G.	(111)	107 .
HOCK A.	(208)	109 .
HSI E.A.W.	(102)	107 .
HUZINO A.	(106)	9 .
JANICKI R.H.	(100)	11 ; (101) 126 ; 130 .
JEFFAY H.	(78)	109 .
JEUNIAUX C.	(74)	109 .
JOHNSON R.D.	(39)	13 ; 55 ; 105 .
JONES J.C.	(40)	13 .
JOST J.P.	(102)	107 .
KAMM D.E.	(103)	10 ; 11 ; (104) 9 .
KAPLAN J.C.	(105)	29 .
KATUNUMA N.	(106)	9 .
KEDENBURG C.P.	(107)	36 .
KENDALL M.G.	(108)	44 .
KENNEY F.T.	(109)	113 .
KERLY M.	(110)	111 ; 126 ; 130 .

KERR W.D.	(111)	107 .
KESNER L.	(160)	112 .
KING C.T.C.	(199)	113 .
KITTLE C.F.	(9)	8 ; (112) 8 .
KLAHR S.	(113)	11 .
KLEIN J.	(175)	137 ; (209) 116 ; 137 .
KNOX W.E.	(127)	113 ; (128) 113 .
KOMETANI Y.	(158)	112 .
KOPECKY F.A.	(114)	8
KRAULIS I.	(115)	17 .
KREBS H.A.	(116)	7 ; (117) 112 ; 113 ; (118) 9 ; (119) 5.
KRÖGER H.	(204)	107 ; 113 .
KROGH A.	(24)	47 ; 49 .
KULAKOFF V.	(93)	13 .
KUTZNER R.	(41)	126 ; 130 .
LACY W.W.	(120)	108 ; 126 ; 130 .
LAMOTTE M.	(121)	41 ; (122) 41 ; 42 ; 43 .
LANDAU R.L.	(123)	13 ; (123bis) 13.
LANE E.A.	(124)	21 ; 114 ; 115 .
LANTOS C.P.	(115)	17 .
LARDY H.A.	(75)	115 .
LARIN F.	(68)	21 ; (242) 21 .
LAUGIER P.	(225)	28 .
LEBLANC M.	(236)	13 ; 115 ; 126 ; 127 ; 136 ;
	(237)	13 ; 115 ; 136 .
LEE S.H.	(125)	11 .
LEUTHARDT F.	(126)	12 ; 109 .
LEVINE R.J.	(187)	113 .
LEVITT M.	(148)	113 .
LI M.P.	(115)	17 .
LIEBELT R.A.	(94)	21 .
LIGOU J.C.	(150)	13 ; 114 .
LIN E.C.C.	(127)	113 ; (128) 113 .
LITWACK G.	(129)	113 .
LOTSPEICH W.D.	(1)	11 ; 107 ; (20) 109 ; (130) 7 ;
	(156)	9 ; (157) 9 .
LOWRY O.H.	(131)	30 .
LUCK J.M.	(55)	13 ; (93) 13 ; (132) 13 .
LUECK J.D.	(133)	107 ; 109 ; 110 ; 111 .
LUGIBIHL K.	(123)	13 ; (123bis) 13 .
LUONG T.N.	(12)	111 ; 112 .
LYNCH E.L.	(39)	13 ; 55 ; 105 .
LYON M.L.	(134)	11 ; 116 .
LYTLE R.I.	(143)	32 .
MACEK V.K.	(95)	31 .
MAC INTYRE J.	(154)	8 .
MAC LEOD M.B.	(174)	106.
MAGGI P.	(135)	11 ; 110 .

MAGNE H.	(49) 104.
MALATHI P.	(136) 126 ; 127 .
MALVIN R. L.	(42) 11 ; (43) 11 .
MARKOV S. M. E.	(23) 34 .
MARLISS E. B.	(10) 107 ; (66) 106 ; (67) 12 ; 112 ; (137) 12 ; 106 ; 107 .
MATTENHEIMER H.	(178) 112.
MATUSSEK N.	(16) 13 ; 115 ; (17) 115 .
MAURON J.	(30) 31 .
MAVRIDES C.	(124) 21 ; 114 ; 115 .
MAYER A.	(49) 104 .
Mc GEE L. E.	(76) 8 .
Mc MENAMY R. H.	(138) 108 .
MEGO J. L.	(199) 113 .
MEHLMAN B.	(150) 13 ; 114.
MELMON K. L.	(188) 115 .
MEZINCESCO M. D.	(139) 28 .
MILLAR R. A.	(146) 13 ; 114 .
MILLER L. L.	(133) 107 ; 109 ; 110 ; 111 ; (140) 106; 108.
MILLS M.	(93) 13.
MIMURA T.	(141) 108.
MINER P.	(195) 7 .
MITTELMAN A.	(142) 13 .
MODESTO T.	(3) 108 .
MOFFAT E. D.	(143) 32 .
MONDON C. E.	(144) 108 .
MOORE S.	(145) 27 ; (212) 33 ; 39 ; (216) 34 .
MOREL M.	(69) 111 .
MORRIS M. E.	(146) 13 ; 114 .
MORTIMORE G. E.	(144) 108 .
MOST A. S.	(137) 12 ; 106 ; 107 .
MULLER W. A.	(10) 107 ; (11) 16 ; 105 .
MUNIER R. L.	(147) 31 .
MUNRO H. N.	(70) 21 .
MUNTWYLER E.	(160) 112 .
NAGATSU T.	(148) 113 .
NAHAS G. G.	(142) 13 ; (149) 5 ; 13 ; 114 ; (150) 13;114; (151) 13 ; (226) 5 .
NALLATHAMBI S.	(3) 108 .
NARUSE H.	(232) 7 .
NASH T. P. jr.	(152) 7 .
NI FHAOLAIN J.	(153) 11.
NORMAN J. N.	(154) 8 .
OCHOA S.	(155) 7 .
O'DONOVAN D. J.	(153) 11 ; (156) 9 ; (157) 9 ; (169) 11 .
OGAWA Y.	(158) 112.
OWEN E. E.	(159) 7 ; 116 .
OWEN O. E.	(66) 106 .

PALEOLOGOS G.	(160)	112.
PARKER M.G.	(7)	103.
PAWLAK M.	(161)	126 ; 127 ; (162) 126 ; 127.
PENG Y.	(163)	126 ; 131.
PENAU H.	(22)	13.
PERAINO C.	(170)	107.
PERES G.	(13)	5 ; (50) 13 ; (51) 13 ; (52) 13 ;
	(164)	21 ; 103 ; 109 ; (165) 11 ; 103 ;
	(166)	11 ; (167) 13.
PHILIPPS R.A.	(229)	1 ; 7.
PIALOUX N.	(64)	112 ; (79) 112.
PIERY Y.	(53)	5 ; (168) 5.
PILKINGTON L.A.	(176)	117 ; (169) 11 ; (176) 117.
PION R.	(161)	126 ; 127 ; (162) 126 ; 127.
PIPES S.	(214)	126 ; 131.
PITOT H.C.	(170)	107.
PITTS R.F.	(57)	9 ; 11 ; (130) 7 ; (134) 11 ; 116 ;
	(171)	21 ; (172) 111 ; 112 ; (173) 11 ;
	(174)	106 ; (175) 137 ; (176) 117 ;
	(177)	106 ; 111 ; (195) 7 ; (209) 116 ; 137 ;
	(218)	106 ; 117.
PLETSCHER A.	(15)	113.
POLLAK V.E.	(178)	112.
POLONOVSKI M.	(179)	7.
POZEFSKY T.	(67)	12 ; 112 ; (137) 12 ; 106 ; 107.
PRATT O.B.	(180)	16.
PREUSS H.G.	(181)	10 ; (182) 10 ; (233) 116.
RANDALL R.J.	(131)	30.
RAY P.D.	(75)	115.
RAYBURN C.J.	(114)	8.
RECTOR F.C. jr.	(91)	8 ; (183) 7.
REHBERG M.L.	(184)	126 ; 130.
REID E.L.	(111)	126 ; 130.
REID J.	(243)	32.
RICHARDS J.B.	(185)	13 ; (186) 13.
RICKENBERG H.V.	(102)	107.
RIVLIN R.S.	(187)	113 ; (188) 115.
ROBERTS A.D.	(183)	7.
ROBERTS E.	(197)	9.
ROBERTS S.	(96)	126 ; 128 ; (189) 126 ; 128.
ROBINSON P.F.	(190)	11.
ROBINSON R.R.	(159)	7 ; 116.
ROEMMELT J.C.	(195)	7.
ROSADO A.	(72)	110.
ROSE C.M.	(242)	21.
ROSEBROUGH V.J.	(131)	30.
ROTH R.H.	(83)	113.
ROUGIER G.	(191)	104.

ROUTIER P.	(54) 32 .
ROUSELL E.V.	(192) 11 .
RUSSEL J.A.	(193) 13 .
RYAN W.L.	(194) 13 ; 115 ; 126 ; 131 ; 135 .
SARRAZIN G.	(147) 31 .
SARTORIUS O.W.	(195) 7 .
SAUNIER C.	(196) 103 .
SAYRE R.W.	(197) 9 .
SBARSKY B.	(198) 13 ; 16 ; 55 ; 104 ; 105 .
SCHAEFFER K.E.	(199) 113 .
SCHARFF R.	(200) 126 ; 128 ; (201) 108 ; 115 ; 126 ; 129 ; 134 .
SCHIBI M.	(196) 103 .
SCHIMASSEK H.	(202) 106 .
SCHIMKE R.T.	(203) 110 .
SCHMIDINGER H.	(204) 107 ; 113 .
SCHOFFENIELS E.	(74) 109 ; (82) 7 ; (205) 112 ; (206) 112 .
SCHONER W.	(207) 112 .
SCHOOLER J.M.	(88) 7 ; 8 ; 9 ; 112 ; 116 .
SCHÜLKE B.	(208) 109 .
SCULLARD J.H.	(6) 10 .
SEEVERS M.M.	(14) 104 ; 109 .
SELDIN D.W.	(32) 7 ; 8 ; (91) 8 ; (183) 7 .
SESHADI SASTRY P.	(136) 126 ; 127 .
SEUBERT W.	(207) 112 .
SHALHOUB R.	(209) 116 ; 137 .
SHAMBAUGH III G.E.	(210) 113 .
SHEARER J.R.	(154) 8 .
SHEPPARD H.	(35) 17 ; 24 ; (36) 17 .
SHIRALI S.	(33) 21 .
SIMONNET H.	(22) 13 .
SLATER E.C.	(222) 112 ; (223) 110 .
SMITH E.L.	(211) 31 .
SMITH G.	(154) 8 .
SOBERON G.	(72) 110 .
SPACKMAN D.H.	(212) 33 ; 39 .
SPRUYT J.E.L.	(110) 111 ; 126 ; 130 .
SQUIRES J.M.	(129) 113 .
STAHL E.	(213) 31 .
STANA L.	(214) 126 ; 131 .
ST CLAIR BROWN R.	(227) 32 .
STEELE B.F.	(23) 34 .
STEFANOVIC M.	(215) 104 .
STEIN S.N.	(186) 13 .
STEIN W.H.	(145) 27 ; (212) 33 ; 39 ; (216) 34 .
STEINSLAND O.S.	(151) 13 .
STONE J.E.	(217) 8 .
STONE W.J.	(177) 106 ; 111 ; (218) 106 ; 117 .

STUPFEL M.	(219) 49 ; 104 .
SVARTOUT H.O.	(180) 16 .
SWENSEID M.E.	(141) 108 .
SZALAY K.S.	(221) 17 .
SZEBERENYI S.	(220) 17 ; (221) 17 .
TAGER J.M.	(222) 112 ; (223) 112.
TAKAGAKI G.	(118) 9 .
TENG H.C.	(32) 7 ; 8 .
TERROINE E.F.	(224) 7 ; 110 .
THIVOLLE L.	(225) 28 .
TIMIRAS P.S.	(62) 13 .
TOMINO I.	(106) 9 .
TORRES J.	(72) 110.
TRAIKOV H.	(115) 17 .
TRINER L.	(226) 5.
TROUGHTON W.D.	(227) 32.
TULLER E.F.	(211) 31 .
TURNER N.A.	(227) 32.
UDENFRIEND S.	(148) 113 .
ULLMANN E.A.	(76) 8 .
VANDERMEERS A.	(228) 126 ; 129.
VANDERMEERS-PIRET M.C	(228) 126 ; 129
VANG J.	(138) 108 .
VAN SLYKE D.D.	(229) 1 ; 7 .
VEYSSIERE G.	(56) 24 .
VIOLLET A.	(ined.) 112 .
WAELSCH H.	(18) 7 ; (37) 7 ; (38) 7 ; (230) 7 ; (231) 7 ; (232) 7 .
WARNER D.A.	(210) 113.
WEBER W.	(209) 116 ; 137 .
WEINMAN K.J.	(178) 112 .
WEISS F.R.	(233) 116.
WEISZ - TABORI G.	(155) 7 .
WELLERS G.	(234) 126 ; 127 ; (235) 15 ; (236) 13 ; 115 ; 126 ; 127 ; 136 ; (237) 13 ; 115 ; 136.
WELLS J.	(217) 8 .
WHITAKER T.	(214) 126 ; 131 .
WHITEHEAD R.W.	(114) 8 ; (217) 8 .
WICKS W.D.	(238) 113 .
WILLIAMS M.	(199) 113 .
WILSON M.	(132) 13 .
WINAND J.	(41) 126 ; 130 .
WINICOV I.	(129) 113 .
WOLLENWEBER P.	(239) 31.
WOOL I.G.	(200) 126 ; 128 ; (201) 108 ; 115 ; 126 ; 129 ; 134.
WU C.	(240) 11.
WURTMAN R.J.	(68) 21 ; (70) 21 ; (241) 21 ; (242) 21 .
YAMADA C.	(141) 108 .

YAMAMURA Y.	(98)	113.
YEARICK E.S.	(214)	126 ; 131 .
YOSHIDA T.	(118)	9 .
YOUNG J.A.	(243)	32 .
YUDKIN J.	(59)	8 .
ZWINGELSTEIN G.	(167)	13 .

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION - OBJET DU TRAVAIL.....	1

PREMIERE PARTIEPOSITION DU PROBLEME

<u>CHAPITRE I</u> - Effets du CO ₂ sur les acides aminés du sang et l'excrétion de l'ammoniac	5
A- Introduction.	5
B- Effets du CO ₂ sur l'hydrolyse rénale de la glutamine et l'excrétion de NH ₄ ⁺	7
C- Effets du CO ₂ sur la "composante amino-acide" du sang	11
D- Conclusion	14
<u>CHAPITRE II</u> - Plan d'expériences	15

DEUXIEME PARTIEMETHODES ET TECHNIQUES D'ETUDE

<u>CHAPITRE I</u> - Réalisation des expériences.....	21
A- Animaux d'expériences	21
B- Réalisation des expériences d'hypercapnie	22
C- Réalisation des expériences de contrôle	23
D- Vérification de quelques paramètres physiologiques...	24
E- Prélèvement des échantillons	25
<u>CHAPITRE II</u> - Techniques analytiques. Détermination des composés azotés	27
A- Dosage des composés α-aminés libres totaux par la ninhydrine	27

	<u>Pages</u>
B- Dosage de l'urée	28
C- Dosage du glutathion	29
D- Dosage des protéines	30
E- Chromatographie des acides aminés sur couche mince.	31
F- Chromatographie par échange d'ions sur colonne, au moyen d'un analyseur Beckman	33
 <u>CHAPITRE III</u> - Méthodes statistiques	 41
A- Moyenne et erreur standard de la moyenne.....	41
B- Coefficient de variation	41
C- Comparaison des variances	41
D- Analyse de la variance; comparaison des moyennes...	42
E- Etude des corrélations	43
 <u>TROISIEME PARTIE</u> <u>RESULTATS PERSONNELS</u> 	
 <u>CHAPITRE I</u> - Mise en évidence de l'hyperaminoacidémie sous l'influence du CO ₂	 47
A- Effets du CO ₂ sur le taux des composés α-aminés libres totaux dans le sang du rat	47
B- Etude de l'influence de l'appareillage employé sur les composés α-aminés du sang	48
C- Effets du CO ₂ sur le pH du sang, la température cen- trale et l'activité des animaux	49
D- Etude des effets de l'hypoxie et de l'hypoxie hypercap- nique	49
 <u>CHAPITRE II</u> - Rôle du niveau initial des composés α-aminés libres dans l'hyperaminoacidémie provoquée par le CO ₂ . Corrélation avec les protéines plasmatiques	 55

	<u>Pages</u>
<u>CHAPITRE III</u> - Etude des variations spécifiques des divers amino-acides et de certains composés azotés du sang sous l'effet du CO ₂	59
A- Effets du CO ₂ sur les composés α-aminés du sang : caractérisation des amino-acides	59
B- Détermination quantitative des modifications des acides aminés provoquées par le CO ₂	61
C- Modifications des corrélations existant entre les amino-acides du sang	67
D- L'urémie chez les animaux hypercapniques	
E- Le taux du glutathion chez les animaux hypercapniques.	
 <u>CHAPITRE IV</u> - Etude des variations du taux des composés α-aminés libres totaux et de certains amino-acides libres dans les tissus, sous l'effet du CO ₂	 79
 <u>CHAPITRE V</u> - Effets d'une injection de tartrate de sodium sur les variations spécifiques des amino-acides induites par le CO ₂ dans le sang du rat.....	 83
 <u>CHAPITRE VI</u> - Effets de la métyrapone sur les variations spécifiques des amino-acides induites par le CO ₂ dans le sang du rat	 87
 <u>CHAPITRE VII</u> - Conclusions de la 3ème Partie.....	 97

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION

A- Spécificité des effets de l'hypercapnie.....	103
B- Rôle des hématies dans le transport des acides aminés.	105
C- Origine tissulaire des amino-acides.....	106
D- Lien avec la protidogénèse	108
E- Hyperaminoacidémie et uréogénèse	109

	<u>Pages</u>
F- Rôle des amino-acides dans la néoglycogénèse	111
G- Intervention des hormones corticosurrénaliennes....	115
H- Signification fonctionnelle.....	116
CONCLUSION	119
ANNEXE I - Les amino-acides du sang, du plasma et des hématies chez le rat normal, d'après les données de la littérature.....	125
ANNEXE II - Données de la littérature relatives aux effets de diverses hormones sur les composés α -aminés chez le rat	133
ANNEXE III- Niveau des amino-acides du plasma au cours de l'acidose ou de l'alcalose chronique, d'après les résultats de PITTS	137
ANNEXE IV- Composition de l'aliment complet pour Rat	141
ANNEXE V - Analyse statistique des résultats	143
ANNEXE VI - Les coefficients de variation des acides aminés..	153
BIBLIOGRAPHIE	157
INDEX DES AUTEURS	185
TABLE DES MATIERES	195

Vu.

Les membres du jury :

D. G. L.
Marcel Florkin

Danielle Gautheron

Flaudon

Vu et approuvé.

Le Directeur de l'U.E.R.
de Didactique et Pédagogie :

[Signature]

R. FONTANGES

Vu et accordé le permis d'imprimer.

Lyon, le 11 octobre 1972

Le Président de l'Université
Claude Bernard,

[Signature]
J. BOIDIN

MM. le Professeur G. PERES - Président

le Professeur Danielle GAUTHERON

le Professeur R. FLANDROIS

le Professeur M. FLORKIN

